

VERGLEICHENDE
LICHTMIKROSKOPISCHE
UND AUTORADIOGRAPHISCHE
UNTERSUCHUNGEN ZUR FORMALEN
PATHOGENESE EXPERIMENTELLER
SCHILDDRÜSENTUMOREN
DER RATTE

Ruth Schneider



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547927_0111

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. M. Eder

VERGLEICHENDE LICHTMIKROSKOPISCHE UND
AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR FORMALEN
PATHOGENESE EXPERIMENTELLER
SCHILDDRÜSENTUMOREN DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ruth Schneider
aus
Burghausen
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.Do. Dr. W. Permanetter
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. M. Eder
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	29.4.1986

Meiner Familie



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Allgemeiner Teil	2
2.1. Makroskopische und mikroskopische Anatomie der Schilddrüse der Ratte	2
2.2. Funktion und Regelmechanismus der Schilddrüse sowie Wirkungsweise der Thyreostatika	5
3. Material und Methode	10
3.1. Versuchstiere und -anordnung	10
3.2. Versuchsdurchführung	12
4. Ergebnisse	15
4.1. Theorie zur Methode der Autoradiographie und ihrer Auswertung	15
4.2. Auswertung	20
4.2.1. Gruppe A: Kontrolltiere	20
4.2.2. Gruppe B: Tiere mit kombinierter Methylthiouracil- und Nitrosome- thylharnstoff-Behandlung Ergebnisse nach	22
4.2.2.1. 2 - 8 Wochen Versuchsdauer	22
4.2.2.2. 8 - 16 Wochen	24
4.2.2.3. 18 - 31 Wochen	26
4.2.2.4. 36 - 44 Wochen	28
4.2.2.5. 51 - 82 Wochen	32
4.2.3. Gruppe C: Tiere mit Methylthiouracil- Behandlung	35
4.2.3.1. 26 bzw. 31 Wochen Versuchs- dauer	35
4.2.3.2. 42 Wochen	38
4.2.3.3. 67 Wochen	39

	Seite
4.2.4. Gruppe D: Tiere mit behandlungs- freiem Intervall	40
4.2.4.1. 3 Wochen nach Absetzen der Behandlung	40
4.2.4.2. 17 Wochen nach Absetzen der Behandlung	43
4.2.5. Zusammenfassung der Befunde	45
4.2.5.1. der Gruppe B	45
4.2.5.2. der Gruppe C	47
4.2.5.3. der Gruppe D	48
5. Diskussion	55
6. Zusammenfassung	73
7. Literaturverzeichnis	76
8. Anhang	85

1. Einleitung und Problemstellung

Für die experimentelle Erzeugung von Schilddrüsentumoren sind eine Vielzahl von Versuchsmodellen bekannt (Übersicht bei Thomas et al. 1975). Schilddrüsentumoren können hervorgerufen werden entweder durch direkte Einwirkung chemisch cancerogener Substanzen oder durch ionisierende Strahlen, andererseits durch Stimulierung der TSH-Produktion in der Adenohypophyse und am sichersten durch Kombination mehrerer Faktoren (Doniach 1958, Lindsay 1969, Lindsay et al. 1961, Christov 1982, Christov und Raichev 1972, Thomas et al. 1975, Mohr et al. 1977, Reznik 1977).

Ziel der vorliegenden Studie war es, die formale Pathogenese experimentell erzeugter Schilddrüsentumoren, die entweder durch Behandlung mit Methylthiouracil oder durch kombinierte Applikation des Thyreostatikums mit dem Cancerogen Nitrosomethylharnstoff entstanden waren, systematisch über den gesamten Versuchszeitraum hinweg, von den präneoplastischen Veränderungen bis zur Entstehung maligner Tumoren zu verfolgen und an ihnen vergleichende morphologische und autoradiographische Untersuchungen durchzuführen. Zusätzlich sollte das Wachstumsverhalten dieser induzierten Tumore nach Wegfall der TSH-Stimulation beobachtet werden.

2. Allgemeiner Teil

2.1. Makroskopische und mikroskopische Anatomie der Schilddrüse der Ratte

Die Schilddrüse der Ratte ähnelt in Form und Aufbau weitgehend der Schilddrüse des Menschen (Gessell 1926, Greene 1963, Walther 1960, Lietz und Böcker 1981). Zwei ovale Lappen, die unmittelbar unterhalb des Larynx etwa in Höhe des 4. und 5. Trachealknorpels direkt der Trachea aufliegen, werden durch einen schmalen Isthmus ventral miteinander verbunden (Abb. 1).



Abb. 1: Tiefe vordere Halsregion einer Ratte (vordere Halsmuskulatur entfernt) mit Larynx und Trachea, die Schilddrüse unmittelbar unterhalb des Larynx beiseits an der Trachea gelegen (↑), 3,5mal natürliche Größe.

Sie sind von einer Bindegewebskapsel umhüllt, deren ausstrahlende Septen die Schilddrüsenlappen in zahlreiche, unterschiedlich große Lobuli unterteilen. Makroskopisch liegen apikal anterolateral die, bei

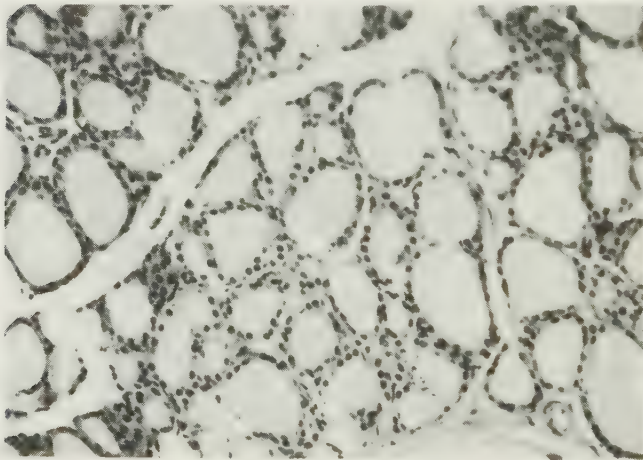
der Ratte paarig angelegten, Epithelkörperchen, die häufig auch intrathyreoideal zu finden sind (Abb. 2).



Abb. 2: Mikroskopische Übersicht der Rattenschilddrüse in ihrer Beziehung zur Trachea mit angeschnittenem Epithelkörperchen (↑), Vergr. 23fach.

Die Schilddrüse einer acht Wochen alten, etwa 150 g schweren, weiblichen Ratte wiegt etwa 0,02 g (Permanetter 1984). Der feinstrukturelle Befund der Schilddrüse zeigt zwei Arten von Zellpopulationen: Thyreozyten und kalzitoninbildende Zellen, C-Zellen genannt. Die Thyreozyten sind die "Hauptzellen". Sie bilden in einschichtigen Epithelreihen die für die Schilddrüse typischen Follikel, die die kleinsten Arbeitseinheiten der Schilddrüse darstellen (Lietz und Böcker 1981) (Abb. 3). Abhängig von der Funktionsphase sind diese Follikelzellen unterschiedlich hoch. Die Follikel sind mit einer eiweißartigen Substanz, dem Kolloid, gefüllt, in dem die Schilddrüsenhormone gespeichert werden. Menge und Zusammensetzung hängen ebenfalls von der Funktion ab. Zwischen den Folli-

keln liegt ein dichtes Kapillar- und Lymphgefäßnetz, das dem Transport der Hormone und ihrer Bausteine dient. Die C-Zellen liegen stets in größeren Verbänden in der äußeren Follikelwand. Sie sind größer und heller als die Thyreozyten und ziemlich unregelmäßig verteilt. Unterscheiden lassen sich diese beiden Zellarten durch immunhistochemische Verfahren: Die Thyreozyten zeigen in der Rattenschilddrüse eine gleichmäßige Reaktion mit Anti-Ratten-Thyroglobulin und die C-Zellen reagieren sehr stark mit Antikalzitinin (Permanetter 1984).



bb. 3: Normale Schilddrüse der Ratte.

Follikel mit einschichtigem flachen bis kubischen Epithel, das Follikellumen mit Kolloid gefüllt.

Schnitt nach Paraffineinbettung, HE, Vergr.

100x.

2.2. Funktion und Regelmechanismus der Schilddrüse sowie Wirkungsweise der Thyreostatika

Die Aufteilung der Schilddrüse in Thyreozyten und C-Zellen entspricht ihrer funktionellen Gliederung. Die C-Zellen synthetisieren das für den Calciumhaushalt wichtige Thyreokalzitonin. Es senkt den erhöhten Calciumgehalt des Blutes und steigert die renale Calcium- und Phosphatausscheidung, wirkt also antagonistisch zum Parathormon der Epithelkörperchen (Löffler et al. 1979). Die Thyreozyten sind die Produktionsstätten der beiden eigentlichen Schilddrüsenhormone, dem Tetrajodthyronin (Thyroxin, " T_4 ") und dem Trijodthyronin (" T_3 "). Qualitativ gesehen, besitzen beide die gleiche biologische Aktivität. T_3 ist jedoch etwa 3mal stärker wirksam, sein Plasmaspiegel beträgt aber nur einen Bruchteil des gesamten Schilddrüsenhormongehalts (Bürgi 1977). Besonderes Kennzeichen der beiden Hormone ist ihr hoher Jodidgehalt. Voraussetzung dazu ist die Fähigkeit der Schilddrüsenzelle, freies Jodid aus dem Plasma aufzunehmen (Jodination) und in ihrem Inneren anzureichern. Das J^- wird in der Zelle zu J_2 oxidiert und reagiert mit Tyrosylresten, die an das spezifische Glykoprotein Thyreoglobulin gebunden sind (Jodisation). So entstehen je nach Anzahl der aufgenommenen Jodatome Monojodtyrosin- (MJT) und Dijodtyrosin-(DJT)-moleküle. Die Kopplung zweier Moleküle Dijodtyrosin führt dann zur Bildung des Thyroxins, das noch an das Thyreoglobulin gebunden ist, und durch Verknüpfung von Monojodtyrosin mit Dijodtyrosin entsteht das Trijodthyronin (Walther 1969, Stüder 1970, Bürgi 1977, Lietz und Böcker 1981) (Abb.4).

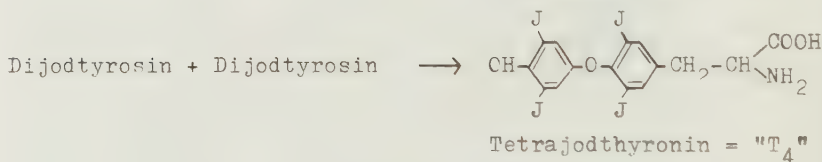
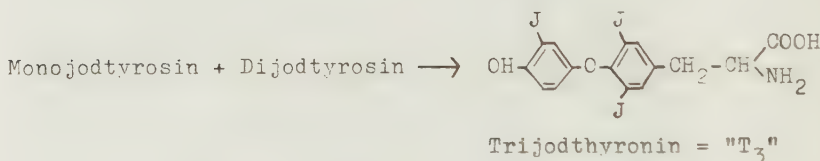
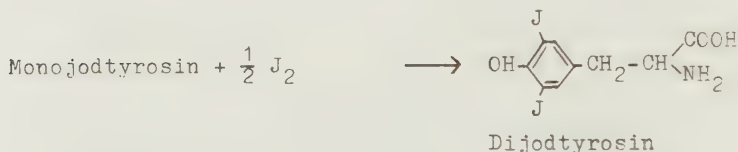
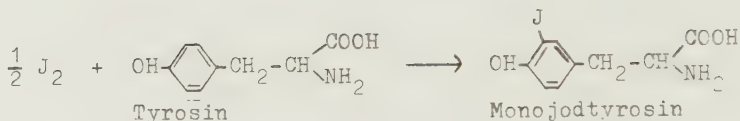


Abb. 4: Systematische Darstellung der Biosynthese
der Schilddrüsenhormone (nach Studer 1970)

Das Thyreoglobulin wird mit den anhaftenden Hormonen ins Follikellumen sezerniert und dort im Kolloid gespeichert. Bei Bedarf werden das Thyroxin und das Trijodthyronin proteolytisch abgespalten und ins Blut abgegeben, wo erneut die Bindung an ein spezifisches Globulin, das Thyroxine Binding Globulin (TBG) erfolgt. Kleine Mengen T₄ werden im Plasma an Albumin und Präalbumin gebunden. Nur ein geringer Teil der

Hormone wird ungebunden transportiert (Studer 1970). Die Funktion der Schilddrüse unterliegt einem Regelmechanismus. Abhängig von der Höhe der Hormonkonzentration wird im Hypophysenvorderlappen ein sog. thyreotropes Hormon (TSH) gebildet, dessen Sekretion durch den TSH-Releasing-Factor (TSH-RF; auch Thyreotropin Releasing Factor = TRF genannt) aus dem Hypothalamus gesteuert wird. Sinkt der Hormonspiegel von T_3 und T_4 ab, wird verstärkt der TRF freigesetzt, wodurch es innerhalb kurzer Zeit zur Zunahme der TSH-Sekretion aus der Adenohypophyse kommt. Dies hat die Aktivierung der Schilddrüse in Form von Größenwachstum und gesteigerter Biosynthese der Hormone zur Folge, wodurch das periphere Hormondefizit ausgeglichen werden kann. Es besteht also ein negativer Rückkopplungsmechanismus (negatives feed-back) zwischen Hypothalamus, Hypophysenvorderlappen, Schilddrüse und dem peripheren Hormonspiegel (Brück 1977, Bürgi 1977, Lietz und Böcker 1981) (Abb. 5).

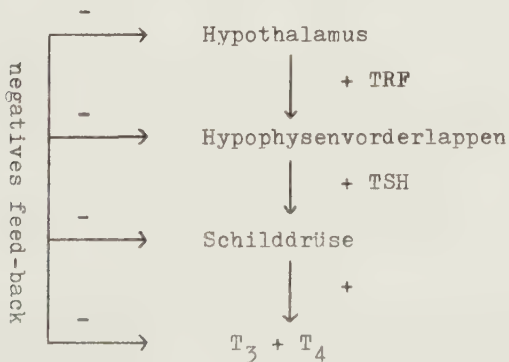


Abb. 5: Schematische Darstellung der Regulation der Schilddrüsenfunktion (nach Brück 1977)

Thyreostatika greifen in diesen Regelmechanismus ein. Sie hemmen je nach ihrer Wirkungsweise die Synthese oder Sekretion der Schilddrüsenhormone. Das im vor-

liegenden Versuchsmodell verwendete Methylthiouracil (4-Hydroxy-6-Methyl-2-Thiopyrimidin) ist ein Derivat des Thiouracils und gehört damit zur Gruppe der Thyreostatika vom Thionamidtyp (Abb. 6). Thyreostatika dieser Art verhindern erstens den Einbau des angereicherten Jods in die Aminosäure Tyrosin und zweitens die Kopplungsreaktion von Monojodtyrosin und Dijodtyrosin bzw. von zwei Molekülen Dijodtyrosin zu Tri- bzw. Tetraiodthyronin. Daraus resultiert eine Abnahme der Schilddrüsenhormonproduktion. Kennzeichen für die Thyreostatika dieses Typs ist die ihnen gemeinsame schwefelhaltige chemische Gruppierung $-S=C-N=$ (Studer 1970).

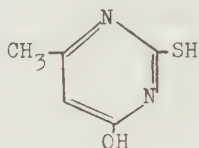


Abb. 6: Strukturformel von Methylthiouracil = 4-Hydroxy-6-Methyl-2-Thiopyrimidin

Erkannt wurde die Wirkung des Thiouracils auf die Schilddrüse von Mackenzie (1943) und Astwood (1943) (Grundmann und Seidel 1965).

Das vorliegende Versuchsmodell beruht auf dem Prinzip des Regelkreises. Die anhaltende Suppression der Schilddrüsenhormonsynthese durch die Methylthiouracil-Behandlung bewirkt eine vermehrte TSH-Ausschüttung aus der Adenohypophyse, die in direktem Zusammenhang mit der Tumorgenese steht.

Die Wirkung des verwendeten Cancerogens N-Nitroso-N-Methyl-Harnstoff wurde von der Arbeitsgruppe um

Druckrey (1961, 1967) untersucht. Ihnen gelang es, die allgemein wirksame cancerogene Eigenschaft dieses Stoffes nachzuweisen (Thomas et al. 1975, Thomas und Bollmann 1969).

3. Material und Methode

3.1. Versuchstiere und -anordnung

Verwendet wurden acht Wochen alte, 150 - 160 g schwere, weibliche Wistarratten aus eigener Inzucht. Die Tiere erhielten, in Gruppen zu je fünf aufgeteilt, Altromin-R-Standard-Diät (Altromin GmbH, Lage) und Wasser ad libitum.

Folgende Versuchsgruppen wurden gebildet:

Gruppe A

diente als Kontrollgruppe. Untersucht wurden 4 mal 5 weibliche Wistarratten, zwei Gruppen im Alter von acht Wochen (Durchschnittsgewicht 150 - 160 g), eine mit 36 Wochen (210 - 220 g) und eine mit 57 Wochen (durchschnittliches Körpergewicht von 310 - 325 g).

Gruppe B

Für diesen Teil des Versuchs wurden insgesamt 100 Tiere verwendet. Sie wurden, in Gruppen von fünf aufgeteilt, 2, 4, 8, 12, 16, 18, 20, 21, 24, 28, 31, 36, 39, 44, 51, 54, 57, 60, 62 und 82 Wochen lang einer kombinierten Behandlung von Methylthiouracil und N-Nitrosomethylharnstoff unterzogen. Das Carcinogen wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen direkt mit der Schlundsonde in den Magen appliziert, jeweils 40 mg/kg Körpergewicht. Methylthiouracil wurde bis zur Tötung in 0,1 %iger Lösung über das Trinkwasser verabreicht. Die durchschnittliche Tagesmenge betrug 95 mg pro Tier, berechnet an der durchschnittlich aufgenommenen Wassermenge.

Gruppe C

bestand aus 20 weiblichen Wistarratten, die mit dem Thyreostatikum Methylthiouracil (4-Hydroxy-6-Methyl-2-Thiopyrimidin, Sigma Chemie GmbH, München) behandelt wurden. Sie erhielten, wiederum in Gruppen von fünf Tieren aufgeteilt, 26, 31, 42 bzw. 67 Wochen lang eine 0,1 %ige Methylthiouracil-Lösung verab-

reicht (durchschnittlich 95 mg/Tier/Tag).

Gruppe D

Bei den 30 Versuchstieren dieser Gruppe wurde 3 bzw. 17 Wochen vor der Tötung die kombinierte Behandlung abgesetzt, um eine Normalisierung des Schilddrüsenhormonspiegels herbeizuführen. Die Tiere mit 3 Wochen behandlungsfreiem Intervall waren 25, 41 bzw. 57 Wochen lang der kombinierten Behandlung unterzogen worden, bei den Tieren mit 17 Wochen waren 26, 48 bzw. 82 Wochen Behandlung vorausgegangen.

3.2. Versuchsdurchführung

Vor der Tötung wurden jeweils drei der fünf Tiere jeder Gruppe mit Einfachmarkierung (^3H -Thymidin) und jeweils zwei Tiere mit Isotopendoppelmarkierung (^3H -Thymidin und ^{14}C -Thymidin) für die autoradiographischen Untersuchungen vorbereitet. Verwendet wurde 6- ^3H -Thymidin, spezifische Aktivität 5000 mCi/mmol, sowie 2- ^{14}C -Thymidin, spezifische Aktivität 56 mCi/mmol (Amersham International plc).

Die Einfachmarkierung erfolgte durch drei aufeinanderfolgende intraperitoneale Injektionen von je 0,8 mCi ^3H -Thymidin/kg Körpergewicht in dreistündigem Abstand. Eine Stunde nach der letzten Injektion wurden die Tiere durch Genickbruch getötet und Schilddrüsen und Lungen entnommen. Bei den für die Doppelmarkierung bestimmten Tieren wurde zuerst ^3H -Thymidin (0,8 mCi/kg Körpergewicht) intraperitoneal injiziert, eine Stunde später 0,1 mCi ^{14}C -Thymidin/kg Körpergewicht. Die Tötung erfolgte ebenfalls eine Stunde später.

Für die lichtmikroskopischen Untersuchungen wurden die entnommenen Organe in gepuffertem, 4 %igem Formalin 24 Stunden lang fixiert, anschließend gewogen, routinemäßig histologisch aufbereitet und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Für die autoradiographischen Untersuchungen wurde der Fixierungsflüssigkeit inaktives Thymidin (0,01 %) zur Verdrängung des nicht gebundenen markierten Thymidins zugesetzt. Bei den doppelmarkierten Schnitten erfolgte eine Über-schichtung mit Ilford K 2-Fotoemulsion (Schichtdicke 3×10^{-2} mm); auf die einfach markierten Präparate wurde eine 1 : 1 verdünnte Emulsion (Ilford K 2, Schichtdicke 5×10^{-3} mm) aufgetragen. Nach 14tägiger Exposition in der Dunkelkammer wurden die Schnitte mit Kodak D 19 entwickelt und fixiert. Die Färbung der Kerne erfolgte durch die Emulsion hin-

durch mit Hämalaun. Parallel dazu wurde an diesen Schnitten eine immunhistochemische Darstellung von Thyreoglobulin durchgeführt, deren Auswertung aber nicht im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgt.

Mikroskopiert wurde bei 400facher Vergrößerung (Öl-immersionsobjektiv, Vergrößerung 40fach und Raster-okular 10fach). Die Schilddrüsenzellen galten dann als markiert, wenn sie mindestens die 4fach höhere Anzahl von Silbergranula enthielten als in der unspezifischen Hintergrundmarkierung (Background). Um diese berücksichtigen zu können, wurde im Parenchym außerhalb der Zellkerne die numerische Dichte der Silberkörner bestimmt. Vor der Auszählung wurden von allen Präparaten mit Hilfe des Zeichenmikroskops Planskizzen angefertigt, in die alle Knotenbildungen (knotige Hyperplasie, Adenome, Karzinome) und Zähl-ergebnisse eingetragen wurden (Abb. 7).

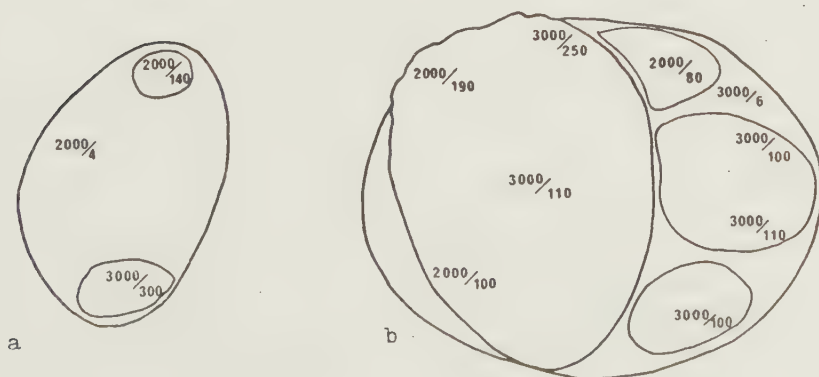


Abb. 7: Planskizze von jeweils einer Schnittstufe zweier Schilddrüsen (a = 12 Wochen, b = 44 Wochen)

Prinzipiell wurden von den Knoten alle oder mindestens 2000 Zellen ausgezählt. Die mit der Versuchsdauer zunehmende Inhomogenität der Markierung wurde insofern berücksichtigt, daß die verschieden stark markierten Felder getrennt ausgezählt wurden und das Areal mit der stärksten Markierungsdichte in die Auswertung einbezogen wurde. Wenn noch erhalten, wurde mit den Parenchymabschnitten ebenso verfahren (2000 Zellen pro Schilddrüse). Bei den doppelmarkierten Schnitten wurden die rein ^3H -markierten Kerne und die ^{14}C -markierten Kerne getrennt gezählt.

4. Ergebnisse

4.1. Theorie zur Methode der Autoradiographie und ihrer Auswertung

Der folgende Abschnitt erklärt zunächst das Prinzip und die Durchführung der Autoradiographie. Dieses Verfahren wird etwa seit Beginn dieses Jahrhunderts zu wissenschaftlichen Untersuchungen eingesetzt. Es bietet die Möglichkeit, Wachstumsverhalten und Proliferationskinetik biologischer Systeme im histologischen Präparat zu beobachten und quantitativ zu erfassen. Prinzipiell wird so verfahren, daß künstlich erzeugte Radioisotope in organische Verbindungen eingebaut und deren Wege im Stoffwechselgeschehen des Organismus verfolgt werden. Für Untersuchungen, die den Wachstumsstoffwechsel betreffen, wird radioaktiv markiertes Thymidin als selektiver Vorläufer der DNS verwendet. Dabei ist es von Vorteil, daß Thymidin nachweislich nur in sehr geringen Mengen in andere Zellbestandteile eingebaut wird und daß es wegen seines raschen Metabolismus nur etwa 40 - 60 Minuten nach Applikation im Organismus zur Verfügung steht (Schultze 1968). Die Zahl der markierten Zellen kann deswegen als Maß für die Proliferationsrate des Gewebes angesehen werden.

Bei den in dieser Studie verwendeten Radioisotopen handelt es sich um das radioaktive Wasserstoffatom (Tritium, ^3H) und den Radiokohlenstoff (^{14}C). Beides sind β -Strahler, besitzen aber eine unterschiedliche Reichweite im Gewebe. Die Silberkörner des relativ energiearmen Tritiums (maximale Energie = 18 KeV) liegen in einer etwa 1 - 2 μm dicken Schicht unmittelbar über dem Gewebe. Im Gegensatz dazu beträgt die Reichweite von ^{14}C ca. 80 - 90 μm (maximale Energie = 150 KeV). Es erzeugt deutliche Silberkornspuren im Gewebe. Dadurch ist eine Unterscheidung zwischen den rein ^3H -markierten Kernen und den ^{14}C -markierten Kernen

möglich. Das autoradiographische Auflösungsvermögen, d.h. der kleinste Abstand, mit dem Strahlungsquellen noch als getrennte Schwärzung zu erkennen sind, beträgt für ^{14}C 2 - 3 μm und für Tritium 0,68 μm (Leblond und Walker 1956, Leblond et al. 1959, Pilgrim und Maurer 1962, 1965, Lennartz 1978).

Physikalisch gesehen besteht das Autoradiogramm aus Gelatine mit eingelagerten Silberbromidkristallen (AgBr). Durch die energiereiche radioaktive Strahlung entsteht metallisches Silber, das durch den Entwicklungsvorgang als Schwärzung sichtbar wird. Mit Hilfe eines Fixationsmittels werden die nicht reduzierten Silberbromidkristalle aus der Emulsion entfernt sowie die markierten, als Vorläufer verwendeten, niedermolekularen Substanzen gegen eine nicht markierte Vorläufersubstanz ausgetauscht. Die Fotoemulsion wird durch kurzes Eintauchen der Objektträger aufgetragen (sog. "Dipping"-Technik). Die Dauer der dann folgenden Exposition in der Dunkelkammer richtet sich nach dem Grad der Radioaktivität im Gewebe und muß durch sog. Test-Autoradiogramme ermittelt werden. In unserem Fall betrug sie 14 Tage. Die Wahl des Entwicklers hängt von der verwendeten Fotoemulsion ab. Anschließend werden die Autoradiogramme fixiert, gewässert und die Schnitte durch die Emulsion hindurch gefärbt (Lennartz 1978).

Als Nulleffekt wird die Entwicklung von Silberkörnern ohne beabsichtigte Applikation von Radioaktivität, nur durch Einwirkung von Strahlung aus der Umgebung oder kosmischer Strahlen, bezeichnet. Dieser muß bei der Auszählung berücksichtigt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden, wie schon erwähnt, diejenigen Zellkerne als markiert gewertet, die eine 4fach höhere Anzahl von Silberkörnern enthielten als der Background betrug. Aus dem Verhältnis der markierten, DNS-synthetisierenden Zellen zur Gesamtzahl der Zellen wird der Markierungsindex berechnet. Er gilt als ein

Maß für die Proliferationsrate des zu untersuchenden Gewebes und erlaubt die Abschätzung der Zellerneuerung. Allerdings gilt es zu berücksichtigen, daß er nicht nur von der Generationszeit, sondern auch von der Dauer der DNS-Synthese-Phase abhängt. Für diese wurde aber in vielen Zellpopulationen ein konstanter Wert von 7 - 8 h ermittelt (Pilgrim und Maurer 1962, 1965, Schultze 1968). Dies deckt sich mit den Ergebnissen, die wir mit Hilfe der Doppelmarkierungsmethode errechneten.

Das Verfahren der Doppelmarkierung wurde bereits mehrfach beschrieben (Hilscher und Maurer 1962, Pilgrim und Maurer 1962, 1965, Wimber und Quastler 1963). Die Versuchstiere erhalten zunächst eine erste Injektion von ^3H -Thymidin und eine Stunde später eine 2. Injektion von ^{14}C -Thymidin. Nach einer weiteren Stunde werden die Tiere getötet, die Gewebeproben entnommen und wie beschrieben für die autoradiographischen Untersuchungen vorbereitet.

Voraussetzungen für die Untersuchungen sind folgende Annahmen:

1. Die DNS unterliegt als genetisches Material keinen Stoffwechselvorgängen,
2. wird es als gültig angesehen, daß nur solche Zellen DNS synthetisieren und damit das radioaktiv markierte Thymidin aufnehmen, die sich auf die Zellteilung vorbereiten und
3. daß es sich bei den zu untersuchenden Zellpopulationen um ein sog. "steady state"-Wachstum handelt, was allerdings bei inhomogen wachsenden Tumoren nicht uneingeschränkt gilt (Schultze 1968).

Erwiesen ist, daß sich der Zellzyklus in 4 Phasen unterteilen läßt, der postmitotischen, präsynthetischen Ruhephase (G_1), der DNS-Synthese-Phase (S), der postsynthetischen, prämitotischen Ruhephase (G_2) sowie der Mitose-Phase (M) (Howard und Pelc 1953).

"Durch die erste Injektion von ^3H -Thymidin werden alle Zellen, die sich zum Zeitpunkt dieser Injektion in der S-Phase befinden, mit ^3H markiert. Während des Zeitintervalls zwischen der ersten und zweiten Injektion wandert ein Teil der markierten Kerne aus der S-Phase in die G_2 -Phase. Auf der anderen Seite treten unmarkierte Kerne aus der G_1 -Phase neu in die S-Phase ein. Durch die zweite Injektion von ^{14}C -Thymidin werden wiederum alle Zellen, die sich zu diesem Zeitpunkt in der S-Phase befinden, mit ^{14}C markiert. Die Autoradiogramme zeigen dann Kerne mit drei verschiedenen Arten von Markierungen:

1. rein ^3H -markierte Kerne, die die S-Phase zwischen der ersten und zweiten Injektion verlassen haben,
 2. rein ^{14}C -markierte Kerne, die zwischen den beiden Injektionen neu in die S-Phase eingewandert sind,
 3. doppelt mit ^3H und ^{14}C markierte Kerne, die sich bei beiden Injektionen in der S-Phase befanden."
- (Schultze 1968).

Unter den vorher genannten Voraussetzungen läßt sich daraus die Dauer der DNS-Synthese-Phase berechnen:

$$\frac{\text{S-Phasen-Dauer (S)}}{\text{Zeitintervall } \Delta t \text{ zwischen den beiden Injektionen}} = \frac{\text{Zahl der } ^{14}\text{C}\text{-markierten Kerne}}{\text{Zahl der rein } ^3\text{H}\text{-markierten Kerne}}$$

t muß kleiner als G_2+M sein, da sonst durch die mitotische Teilung markierter Kerne das Ergebnis verfälscht wird (Schultze 1968).

Das hier beschriebene Verfahren läßt sich nach Pilgrim und Maurer (1962) auch bei cancerisiertem Gewebe anwenden, da auch hier gilt, daß sich die Zellpopulation im Verhältnis zur Dauer der S-Phase von 7 - 8 Stunden genügend langsam verändert.

Für die Ermittlung der Generationszeiten ergibt sich folgende Beziehung:

$$\frac{\text{Zahl der markierten Zellen}}{\text{Gesamtzahl der Zellen}} = \frac{\text{S-Phasen-Dauer (S)}}{\text{Generationszeit (T)}}$$

Die großen Unterschiede, die bezüglich der Generationszeiten in den verschiedenen Zellpopulationen bestehen, sind im wesentlichen auf Unterschiede in der G_1 -Phase, der postmitotischen, präsynthetischen Ruhephase zurückzuführen. M- und S-Phase weisen relativ konstante Werte auf (Pilgrim und Maurer 1962, Schultze 1968).

Unter Berücksichtigung all dieser Grundlagen erfolgte auch die Auswertung unserer Autoradiogramme.

4.2. Auswertung

In den folgenden Abschnitten werden zuerst die Ergebnisse der verschiedenen Versuchsgruppen einzeln aufgeführt, mit besonderer Berücksichtigung der Beziehung, die zwischen dem histologischen Erscheinungsbild und der Größe des ermittelten Markierungsindex besteht sowie der Entwicklung der Schilddrüsen- und Tiergewichte.

4.2.1. Gruppe A: Kontrolltiere

Die Tiere dieser Gruppe zeigen sowohl lichtmikroskopisch als auch in der autoradiographischen Auswertung über den gesamten Versuchszeitraum hinweg die Befunde einer normalen erwachsenen Rattenschilddrüse. Der Markierungsindex ist aufgrund der geringen Proliferationsaktivität, die typisch ist für das Erwachsenenstadium der Rattenschilddrüse (Leblond und Walker 1956, Leblond et al. 1959), niedrig. Er liegt bei Durchschnittswerten um 0,3 %. Dies entspricht auch den Ergebnissen früherer Untersuchungen von Sheline (1969) und Christov et al. (1973). In diesem Stadium zeigt die Rattenschilddrüse eine sehr geringe Sensibilität gegenüber Cancerisierungsversuchen. Sheline (1969) und Christov et al. (1973) verfolgten die Entwicklung der Rattenschilddrüse vom Zeitpunkt der Geburt bis ins Erwachsenenstadium. Ihre Untersuchungen ergaben, daß die Zellerneuerungstendenz bei der neugeborenen Ratte sehr viel höher liegt. Sie errechneten für den Markierungsindex Durchschnittswerte von 5 bis 7 %. Ab dem 10. Lebenstag sinkt dieser Wert wieder ab, bis er ca. in der 8. Lebenswoche die Werte des Erwachsenenstadiums erreicht. Für die DNS-Synthese-Phase ermittelten Sheline (1969) und Christov et al. (1973) eine Dauer von 7 - 8 Stunden, was auch den Werten entspricht, die wir mit Hilfe der Doppelmarkierungsmethode erhielten.

Histologisch sind die Follikel im normalen Schilddrüsengewebe unterschiedlich groß, im Zentrum überwiegen die kleinen Follikel, peripher die größeren mit flachem Epithel. Alle Follikel enthalten blaß eosinophiles Kolloid (Grundmann und Seidel 1965).

Das Gewicht der 8 Wochen alten Ratten beträgt durchschnittlich 150 - 160 g, das der 36 Wochen alten Versuchstiere ca. 210 - 220 g und das der 57 Wochen alten Ratten 310 - 325 g. Das Schilddrüsengewicht einer 8 Wochen alten, 150 - 160 g schweren Ratte liegt bei ca. 0,02 g und ändert sich mit zunehmendem Alter kaum (Tab. 2).

4.2.2. Gruppe B: Tiere mit kombinierter Methylthiouracil- und Nitrosomethylharnstoff-Behandlung

In dieser Gruppe kommen insgesamt 100 Tiere zur Untersuchung, die einer kombinierten Behandlung mit Methylthiouracil und Nitrosomethylharnstoff unterzogen wurden, um die Entstehung von Schilddrüsentumoren nach thyreostatischer Behandlung und gleichzeitiger Cancerisierung zu beobachten. Zuerst werden die lichtmikroskopischen Veränderungen im jeweiligen Versuchszeitraum beschrieben und in Beziehung zu den mit Hilfe der Autoradiographie ermittelten Ergebnissen gesetzt. Anschließend werden jeweils die Veränderungen bezüglich des Schilddrüsen- und Körpergewichts der Ratten aufgezeigt.

4.2.2.1. Ergebnisse nach 2 - 8 Wochen Versuchsdauer

Lichtmikroskopisch zeigt sich bereits nach 2 Wochen Behandlung eine deutliche Tendenz zur Ausbildung von gleichmäßig hyperplastischem Schilddrüsengewebe. Die Follikel, die vorwiegend von zylindrischen Epithelzellen gebildet werden, enthalten nur spärlich Kolloid in ihren Lumina und weisen z. T. pseudopapilläre Einfaltungen auf. Die Zellkerne sind deutlich vergrößert, ihre Nucleoli meist gut sichtbar und das Zytoplasma erscheint wabig aufgelockert (Abb. 8).

Die autoradiographische Auswertung ergibt einen Anstieg der Markierungsindizes von einem Normalwert um 0,28 % auf ca. 2 % nach 2 Wochen mit anschließendem Absinken auf etwa 0,9 % nach 4 Wochen (Tab. 1). Nach 8 Wochen Versuchsdauer wird wieder der Normalwert erreicht. Das ebenfalls ausgewertete Bindegewebe in der Umgebung bzw. das Endothel der hyperplastischen Kapillaren zeigen einen etwa gleich hohen Wert. Für die DNS-Synthese-Phase errechneten wir mit der Doppelmarkierungsmethode eine Dauer von 7 - 9 Stunden.

Das Schilddrüsengewicht läßt infolge der thyreostatischen Behandlung eine starke Zunahme erkennen. Es steigt von durchschnittlich 0,024 g nach 4 Wochen um 50 % auf durchschnittlich 0,0375 g und nach 8 Wochen um 170 % auf etwa 0,065 g an. Das Körpergewicht der Tiere bleibt in diesem Versuchszeitraum konstant (Tab. 2).

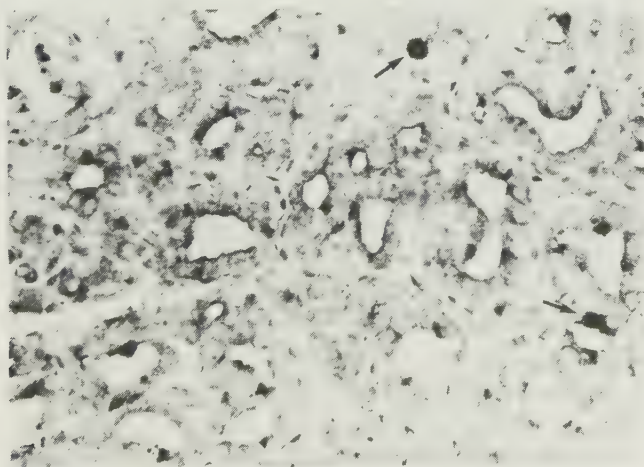


Abb. 8: Schilddrüse, Ratte, 2 - 8 Wochen Versuchsdauer.
 2 (↑↑) ^3H -Thymidin-markierte Follikel-epithelzellen bei gleichzeitiger immunhistochemischer Darstellung von Thyreoglobulin.
 Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun, Vergr. 600fach.

4.2.2.2. Ergebnisse nach 8 - 16 Wochen Versuchsdauer

Lichtmikroskopisch sind ab der 12. Versuchswoche die ersten knotigen Verdickungen zu beobachten (Abb. 9). Diese meist runden Herde bestehen aus nur wenigen, unterschiedlich großen Follikeln, die sich durch ihre größere Zelldichte deutlich von der diffus hyperplastischen Umgebung unterscheiden. Vereinzelt sind Knötchen mit pseudopapillären Strukturen zu finden. Ab der 12. Woche steigt die Anzahl der knotigen Verdickungen pro Schilddrüse rasch an. Die Schilddrüsen mit 16wöchiger Behandlung bestehen oft zu mehr als die Hälfte aus diesen Knoten. In 2 Ausnahmefällen hat sich bei 12wöchiger Behandlung nur je ein solcher Herd pro Schilddrüse gebildet. Eine deutliche bindegewebige Abgrenzung zur hyperplastischen Umgebung ist nicht festzustellen. Meist gehen diese Knoten unmittelbar ins angrenzende Parenchym über.

Autoradiographisch fällt auf, daß diese Knoten eine sehr viel stärkere Proliferationstendenz aufweisen als die Umgebung. Der Markierungsindex liegt deutlich höher. Im hyperplastischen Schilddrüsengewebe beträgt der Markierungsindex durchschnittlich weniger als 1 %, während die jeweils größten Knoten bis ca. 8 % markiert sind. Es kommen aber starke individuelle Schwankungen vor: In einem Fall beträgt der Markierungsindex des größten Knoten 19 %. Auffällig ist auch, daß kleinere Knoten im allgemeinen einen geringeren Index aufweisen. Für sie beträgt der Durchschnittswert 5 % (Tab. 1).

Bezüglich der Schilddrüsen- und Körpergewichte der Tiere sind keine Veränderungen festzustellen (Tab. 2).

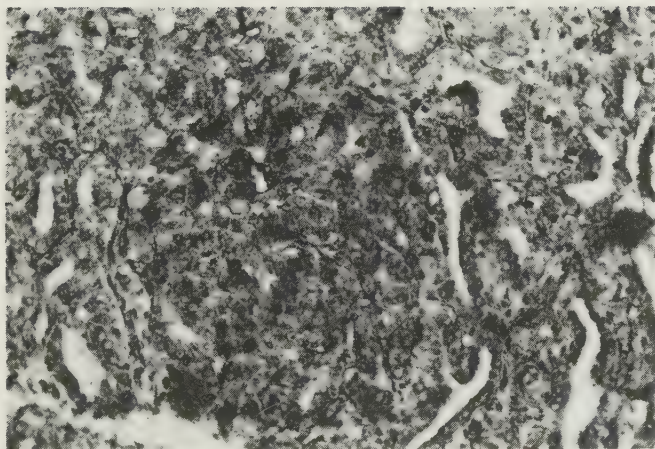


Abb. 9: Schilddrüse, Ratte, 12 Wochen Versuchsdauer.
Frühe knotige Hyperplasie, erhöhte ^3H -Thymi-
dinmarkierung.
Paraffinschnitt, HE, Vergr. 230fach.

4.2.2.3. Ergebnisse nach 18 - 31 Wochen Versuchsdauer

Lichtmikroskopisch ist das histologische Bild verändert: die Befunde werden immer variabler. Mehrfach finden sich jetzt Knoten mit bindegewebiger Randreaktion bis hin zur Ausbildung einer unregelmäßigen fibrösen Kapsel (Abb. 10). Stellenweise kommt es zu entzündlichen Randreaktionen. Daneben treten auch noch unscharf abgegrenzte, knotige Areale auf. Die Knoten selbst sind sehr unterschiedlich aufgebaut, teils trabekulär, teils follikulär, manchmal mit pseudopapillären Formationen, sehr selten mit "hellzelligen" Herden. In zwei Schilddrüsen kommt es zur Ausbildung besonders auffälliger Strukturen: In einem Fall handelt es sich um einen umschriebenen Herd, der sich in einem inhomogen aufgebauten, scharf abgegrenzten Knoten befindet. Er ist charakterisiert durch Zellen mit auffällig großen, blassen Zellkernen mit deutlicher Kernmembran. Dieser Bezirk liegt peripher in dem vorher schon bestehenden Knoten. Im zweiten Fall fällt ein pilzförmiger Karseldurchbruch auf, der von epithelialen Zellen mit auffallend großen hellen Zellkernen mit betonter Kernmembran gebildet wird. In der 18. Woche kommt es zum Auftreten eines ersten Karzinoms mit Gefäßeinbruch sowie zweier großzelliger Karzinome, auf deren Charakteristik später eingegangen wird.

Die autoradiographische Auswertung ergibt für die jeweils größten Knoten durchschnittlich geringere Werte als für die entsprechenden Knoten im vorherigen Versuchszeitraum. Es wurden Werte zwischen 4,2 und 6 % ermittelt (Tab. 1). Allerdings nehmen mit wachsender Knotengröße auch die individuellen Schwankungen zu. Allgemein kann festgestellt werden, daß die am stärksten markierten Bereiche meist herdförmig am Rand der Knoten angeordnet sind. Der Markie-

rungsindex kleinerer Knoten liegt zwischen 2 und 4,5 % (Tab. 1). Die Höhe des Markierungsindex weist also eine eher abnehmende Tendenz auf. Gleichzeitig durchgeführte immunhistochemische Untersuchungen für Thyreoglobulin ergaben für die neu entstandenen Herde mit großen, blassen Zellkernen eine auffällige Thyreoglobulinarmut. Hinsichtlich des Markierungsindex läßt sich zwischen diesen Bezirken und der thyreoglobulinreichen normalen Umgebung kein Unterschied feststellen.

Die Schilddrüsengewichte nehmen bis durchschnittlich 0,24 g zu, die Tiergewichte bleiben konstant bei Werten zwischen 120 und 170 g (Tab. 2).

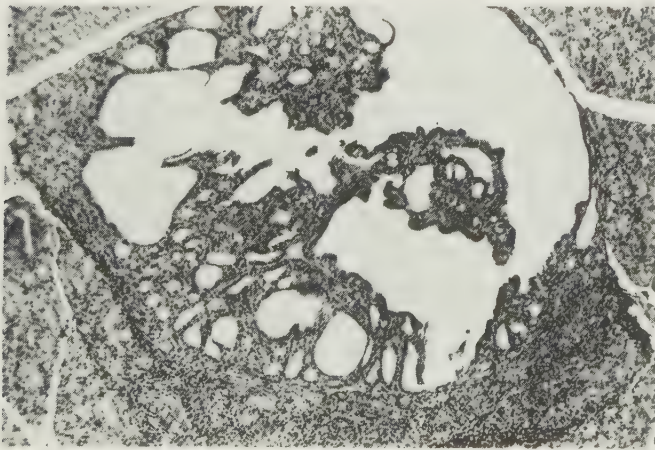


Abb. 10: Schilddrüse, Ratte, 21 Wochen Versuchsdauer.
Knotenbildung mit deutlicher fibröser Abgrenzung.
Paraffinschnitt, HE, Vergr. 100fach.

4.2.2.4. Ergebnisse nach 36 - 44 Wochen Versuchsdauer

Lichtmikroskopisch hat sich die Unregelmäßigkeit des histologischen Bildes noch verstärkt. Während die Anzahl der relativ homogen aufgebauten, hyperplastischen Knoten eher abnimmt, steigt die Anzahl der Knoten an, die eine weitgehend unregelmäßige Struktur aufweisen und durch eine fibröse Kapsel von der Umgebung abgegrenzt sind. Das Bindegewebe dieser Kapsel wird häufig durch dazwischen liegende Follikel epithelverbände aufgesplittert. Innerhalb dieser Knoten lassen sich verschiedene, auffällig strukturierte Areale voneinander abgrenzen. Oft finden sich solid papillär oder follikulär aufgebaute Herde, deren Zellen sich eindeutig durch ihre großen, blassen Zellkerne mit scharfer Kernmembran von der Umgebung unterscheiden. Auffällig sind auch zystisch veränderte Bezirke, die in ihrem Inneren Granulozyten und Zelldetritus enthalten. Diese lassen keine Tendenz zum invasiven Wachstum erkennen. Außer diesen kleinen auffälligen Arealen, die meist zentral in follikulären Knoten liegen, treten in diesem Versuchszeitraum auch gehäuft eindeutig infiltrierend wachsende Karzinome auf. Dabei lassen sich, histologisch und durch Zuhilfenahme zusätzlicher immunhistochemischer Methoden generell zwei Arten unterscheiden: Der breit infiltrierend wachsende, thyreoglobulinarme Karzinomtyp mit überwiegend adenoidem Charakter und auffällig großen, blassen Zellkernen mit deutlich sichtbarer Kernmembran (Abb. 11) und die angioinvasiv wachsende Variante mit relativem Thyreoglobulinreichtum, bei der es sich meist um gut differenzierte, follikuläre Zellkomplexe handelt, mit höchstens mittelgroßen, chromatindichten Zellkernen (Abb. 12). In einer Schilddrüse mit 36wöchiger kombinierter Behandlung findet sich auch ein infiltrierend wachsendes C-Zell-Karzinom (Abb. 13).

Gleichzeitig zeigt diese Schilddrüse auch eine eindeutige C-Zell-Hyperplasie im übrigen Schilddrüsengewebe.

Bei drei Tieren mit vom Follikel-epithel ausgehenden Schilddrüsenkarzinomen lassen sich Lungenmetastasen nachweisen.

Die autoradiographische Auswertung zeigt, daß die jeweils am stärksten markierten Bereiche der größten Knoten im Vergleich zu entsprechenden Knoten früherer Versuchsstadien wesentlich geringer markiert sind. Der Markierungsindex liegt in dieser Versuchsgruppe durchschnittlich zwischen 3,6 und 4,5 % (Tab. 1). Eine Tiergruppe, deren Werte mit 6,7 % deutlich höher liegen, bildet eine Ausnahme. Generell läßt sich feststellen, daß v.a. in den Randbezirken der Tumoren, die thyreoglobulinarmen Bereiche deutlich höher markiert sind als die thyreoglobulinreichen. Die eindeutig invasiven Karzinome zeigen sehr hohe Schwankungen bezüglich der Größe ihrer Markierung. Der Index der thyreoglobulinreichen, gefäßinvasiven, follikulären Karzinome ist kleiner als der der thyreoglobulinarmen, breit infiltrierenden, großzelligen Bezirke. Das C-Zell-Karzinom weist in seiner gesamten Ausdehnung eine ziemlich gleichmäßige Markierung auf. Der Markierungsindex des jetzt nur noch spärlich vorhandenen, nicht neoplastisch veränderten Schilddrüsengewebes beträgt durchschnittlich 0,2 %.

Für die DNS-Synthese-Phase wurden relativ schwankende Werte von 7 - 14 Stunden errechnet.

Die Schilddrüsengewichte steigen weiter auf durchschnittlich 0,37 g an; das Körpergewicht der Tiere zeigt keine signifikante Änderung und liegt etwa zwischen 118 und 157 g (Tab. 2).

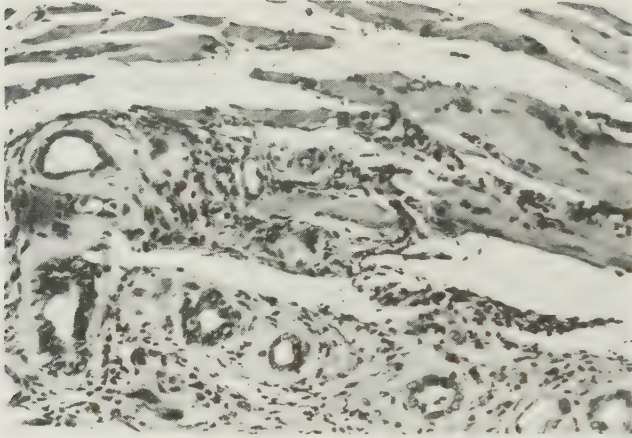


Abb. 11: Schilddrüse, Ratte, 44 Wochen Versuchsdauer.
 Breit infiltrierendes, großzelliges, teils
 follikulär aufgebautes Karzinom mit Invasion
 in die umgebende Halsmuskulatur.
 Paraffinschnitt, HE, Vergr. 230fach.

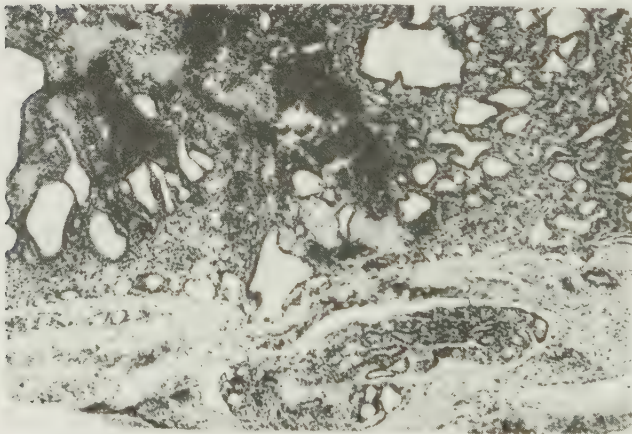


Abb. 12: Schilddrüse, Ratte, 44 Wochen Versuchsdauer.
 Hochdifferenziertes, follikuläres Karzinom
 mit Gefäßinvasion.
 Paraffinschnitt, HE, Vergr. 100fach.

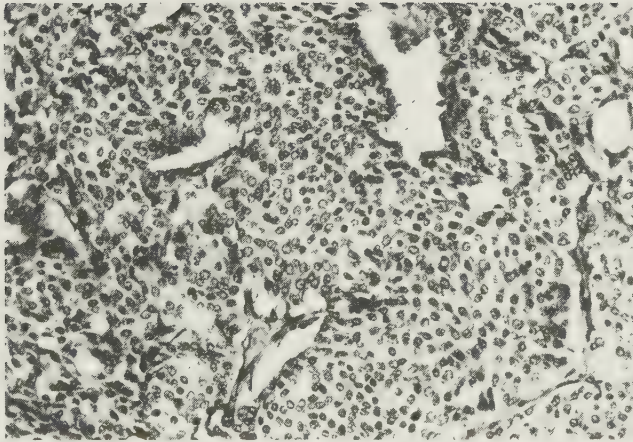


Abb. 13: Schilddrüse, Ratte, 36 Wochen Versuchsdauer.
Invasives C-Zell-Karzinom.
Paraffinschnitt, HE, Vergr. 230fach.

4.2.2.5. Ergebnisse nach 51 - 82 Wochen Versuchsdauer

Lichtmikroskopisch hat die Variabilität weiter zugenommen. Das normale Schilddrüsengewebe ist zu diesem Zeitpunkt weitgehend von Adenomen bzw. Karzinomen, die jetzt das histologische Bild beherrschen, verdrängt worden. Generell nimmt die Anzahl der eindeutig invasiven Karzinome mit der Dauer der Behandlung zu. Bei den Tieren mit 51, 54 bzw. 57 Wochen laufender Behandlung finden sich in jeweils zwei von fünf Schilddrüsen Karzinome; nach 62wöchiger Versuchsdauer treten in vier von fünf Schilddrüsen Karzinome auf, und nach 82 Wochen Versuchsdauer lassen sich in allen Schilddrüsen Karzinome nachweisen. Sechs Karzinome sind dem breit infiltrierenden, großzelligen Typ zuzuordnen, sechs Karzinome gehören der gut differenzierten, angioinvasiven, thyreoglobulinreichen, follikulär aufgebauten Variante an und drei Karzinome sind durch ihren gemischten Aufbau gekennzeichnet. Häufig finden sich jetzt auch regressive Veränderungen mit teilweise bindegewebiger Organisation. In diesem Versuchszeitraum fallen auch immer mehr kleinere, teilweise papillär strukturierte Neubildungen auf, mit großen, blassen Kernen mit betonter Kernmembran. Diese entsprechen dem breit infiltrierenden, großzelligen Karzinomtyp. In 9 Fällen lassen sich Lungenmetastasen nachweisen, wobei die kleinsten Metastasen bis zu einer Größe von 50 μm die Gefäßwände noch nicht durchbrochen haben und die größeren bis zu 400 μm Durchmesser bereits das umgebende Lungengewebe infiltrieren (Abb. 14). Die Metastasen gehören ausschließlich dem gut differenzierten, follikulär aufgebauten Typ mit chromatindichten, mittelgroßen Zellkernen an. Autoradiographisch bleibt die abnehmende Tendenz erhalten. Der durchschnittliche Markierungsindex der jeweils am stärksten markierten Bereiche der größten

Knoten beträgt in der 51. Woche noch 3,75 % und in der 82. Woche nur mehr 2,65 % (Tab. 1). Eine Ausnahme bilden die Schilddrüsen nach 62wöchiger Behandlungsdauer, deren durchschnittlicher Markierungsindex mit 4,4 % etwas höher liegt. Eine Schilddrüse weicht mit ihren Werten völlig ab. Es handelt sich dabei um ein sehr großes, breit infiltrierendes, teilweise papilläres Karzinom, dessen Markierungsindex in den größten Knoten Werte bis 20 % erreicht. Die schon erwähnten kleineren großzelligen, thyreo-globulinarmen Neubildungen besitzen eine auffällig hohe Markierungsdichte von 10 %. Wegen ihrer geringen Größe und Lokalisation oft außerhalb der am stärksten markierten Bereiche der größten Knoten wurden sie in die Berechnungen der durchschnittlichen Markierungsindizes nicht einbezogen. Die Umgebungsmarkierung im nur noch spärlich vorhandenen, nicht knottig veränderten Schilddrüsen Gewebe liegt bei etwa 0,3 %. Für den Markierungsindex der Lungenmetastasen wurden Werte von ca. 1 - 2 % ermittelt.

Die Schilddrüsen Gewichte steigen bis auf 0,58 g weiter an, das Körpergewicht bleibt konstant und liegt zwischen 127 und 156 g. Zum Vergleich sei das Gewicht von 57 Wochen alten, unbehandelten Kontrolltieren angegeben: es beträgt durchschnittlich 320 g mit nur geringen individuellen Schwankungen (Tab. 2).

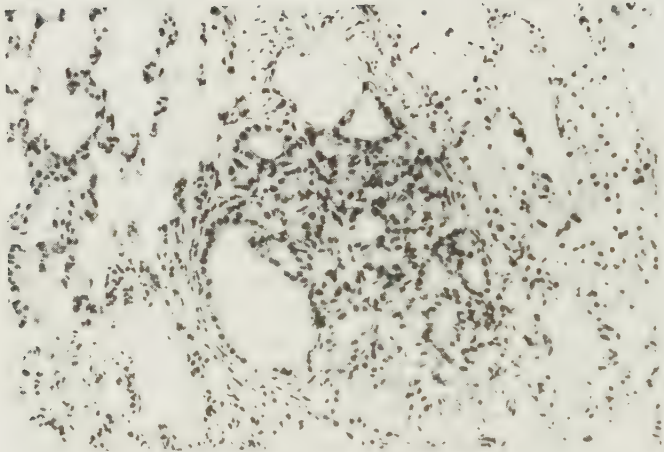


Abb. 14: Lunge, Ratte, 82 Wochen Versuchsdauer.
Größere Lungenmetastase eines follikulären
Schilddrüsenkarzinoms.
Paraffinschnitt. HE, Vergr. 230fach.

4.2.3. Gruppe C: Tiere mit Methylthiouracil-Behandlung

Zur Untersuchung kamen in dieser Versuchsgruppe 20 weibliche Wistar-Ratten, die, in Gruppen von 5 Tieren aufgeteilt, 26, 31, 42 bzw. 67 Wochen lang mit Methylthiouracil behandelt wurden. In früheren Arbeiten war nachgewiesen worden, daß Methylthiouracil, als 0,1 %ige Lösung kontinuierlich im Trinkwasser verabreicht, zu einer totalen Inhibition der Schilddrüsenhormonsynthese führt (Wollman 1961, Christov und Raichev 1972). Die Veränderungen, die sich an der Schilddrüse als Folge der thyreostatischen Behandlung entwickeln, sind in der Literatur bereits mehrfach beschrieben (Gerteis 1952, Grundmann und Seidel 1965, Sheline 1969, Christov und Kristeva 1971, Christov und Raichev 1972, Christov 1972, 1981), jedoch fehlt meist eine gleichzeitig durchgeführte autoradiographische Untersuchung, die Aussagen über die Proliferationsrate des Gewebes ermöglicht.

4.2.3.1. Ergebnisse nach 26 bzw. 31 Wochen Versuchsdauer

Lichtmikroskopisch treten bei den lediglich mit Methylthiouracil behandelten Tieren nach 26 bzw. 31 Wochen als Zeichen des erhöhten TSH-Spiegels knotig hyperplastische Veränderungen auf, vergleichbar mit der Entwicklung der Schilddrüse in der Versuchsgruppe mit 8wöchiger kombinierter Methylthiouracil- und Nitrosomethylharnstoff-Behandlung. Die Follikel epithelzellen sind zylindrisch, die Kerne chromatin-dicht und das Kolloid fast völlig verschwunden. Eine bindegewebige Abgrenzung der hyperplastischen Bezirke zum umgebenden Schilddrüsenparenchym liegt nicht vor.

Der Markierungsindex des normalen Schilddrüsengewebes liegt bei 0,24 %; die Markierung der Knoten nach

26 Wochen Behandlung bei durchschnittlich 8,6 % und nach 31 Wochen bei ca. 1,5 % (Tab. 1).

Die Schilddrüsengewichte sind geringer als bei den zusätzlich cancerisierten Tieren der vergleichbaren Versuchsgruppe, sie liegen bei 0,076 bzw. 0,070 g (Tab. 4); bezüglich der Körpergewichte sind keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

4.2.3.2. Ergebnisse nach 42 Wochen Versuchsdauer

Nach 42wöchiger Behandlung mit Methylthiouracil wird das histologische Bild der Schilddrüse von kleinen bis mittelgroßen hyperplastischen Knoten im Sinne einer knotigen Hyperplasie bzw. von Adenomen bestimmt. Karzinome, wie sie in der vergleichbaren cancerisierten Versuchsgruppe mit 36 - 44wöchiger Versuchsdauer gehäuft auftreten, kommen nicht vor. Zwei Schilddrüsen sind lediglich knotig hyperplastisch verändert. In einer Schilddrüse findet sich ein größerer, inhomogen strukturierter Knoten, der durch eine fibröse Kapsel von der Umgebung abgegrenzt ist. Diese Kapsel ist stellenweise durch dazwischen liegende Epithelzellverbände aufgesplittert. Unterschiede bezüglich des Thyreoglobulingehalts zwischen den knotigen Arealen und der Umgebung bestehen nicht. Auffällige großzellige, thyreoglobulinarme Herde lassen sich nicht nachweisen. Es liegen auch keine Anhaltspunkte für Malignität vor.

Der Markierungsindex des nicht knotig veränderten Schilddrüsen-Parenchyms beträgt durchschnittlich 0,24%. Die Knoten sind stärker markiert, ihr Markierungsindex liegt bei ca. 4,6 %. Der fibrös abgekapselte Knoten weist eine sehr unregelmäßige Markierung auf. Die Bezirke stärkerer Markierung liegen überwiegend in den Randbereichen (Tab. 1).

Die Schilddrüsen wiegen in dieser Versuchsgruppe durchschnittlich 0,058 g, also erheblich weniger als in der Vergleichsgruppe der 36 - 44 Wochen lang mit Methylthiouracil und Nitrosomethylharnstoff behandelten Tiere. Deren durchschnittliches Schilddrüsengewicht beträgt 0,37 g. Das Durchschnittsgewicht der Tiere unterscheidet sich nicht von den Tieren dieser Vergleichsgruppe (Tab. 4).

4.2.3.3. Ergebnisse nach 67 Wochen Versuchsdauer

Lichtmikroskopisch weisen drei der fünf untersuchten Schilddrüsen dieser Gruppe eine gleichmäßige Hyperplasie auf. In zwei Schilddrüsen ist nach 67wöchiger Methylthiouracil-Behandlung je ein fibrös abgekapseltes, inhomogen strukturiertes, follikuläres Adenom entstanden. Im Gegensatz zu den Tieren der Vergleichsgruppe mit 51 - 82wöchiger kombinierter Behandlung treten keine Hinweise auf malignes Wachstum und keine auffälligen großzelligen Herde auf.

Der Markierungsindex der Adenome ist sehr niedrig, er beträgt 0,33 % bzw. 0,25 %. Das unveränderte restliche Schilddrüsengewebe ist mit einem Index von 0,13 % ebenfalls auffällig gering markiert und liegt damit sogar unterhalb der Werte von 0,3 %, die für das Schilddrüsengewebe einer normalen unbehandelten erwachsenen Ratte errechnet wurden (Tab. 1).

Das Schilddrüsengewicht der Tiere dieser Gruppe beträgt durchschnittlich 0,11 g (Durchschnittsgewicht der zusätzlich cancerisierten Vergleichsgruppe = 0,58 g). Das durchschnittliche Tiergewicht zeigt mit ca. 140 g keine Unterschiede dazu (Tab. 4).

4.2.4. Gruppe D: Entwicklung der induzierten Schilddrüsenveränderungen nach Absetzen der Behandlung

Für diesen Teil des Versuchs wurden 30 Tiere verwendet, die zwei Gruppen bildeten. Die eine Gruppe erhielt noch 3 Wochen nach Absetzen der 25-, 41- bzw. 57wöchigen Behandlung normales Trinkwasser verabreicht, und die Tiere der zweiten Gruppe lebten noch 17 Wochen nach Beendigung der 26-, 48- bzw. 82wöchigen Behandlung.

Für die Inaktivierung der thyreostatischen Substanzen und die Wiederherstellung des hormonalen Gleichgewichts genügen 14 Tage (Wollman 1961).

4.2.4.1. Befunde 3 Wochen nach Absetzen der Behandlung

Die histologische Untersuchung der fünf Schilddrüsen mit 25wöchiger Behandlung und 3 Wochen behandlungsfreiem Intervall erbrachte in vier Fällen den Nachweis infiltrierender Karzinome. In einer Schilddrüse handelt es sich um den breit infiltrierenden, großzelligen, thyreoglobulinarmen Typ. Eine Schilddrüse weist keine Anzeichen einer malignen Entartung auf, sie ist lediglich knotig hyperplastisch verändert. Dagegen finden sich in zwei Schilddrüsen Anteile beider Karzinomarten. In einer Schilddrüse hatte sich ein rein follikuläres, thyreoglobulinreiches Karzinom entwickelt. Prinzipiell läßt sich feststellen, daß das restliche, nur hyperplastische Schilddrüsengewebe deutliche Anzeichen der Rückbildung aufweist. Es ähnelt wieder weitgehend dem histologischen Bild einer normalen euthyreoten Schilddrüse: das Epithel ist abgeflacht, und die Follikellumina enthalten wieder reichlich Kolloid. In den schon knotig veränderten Arealen liegen die Kerne noch relativ dicht und das Epithel ist noch zylindrisch hoch im Vergleich

zum normalen Parenchym. Stellenweise enthalten jedoch die Follikel wieder Kolloid.

Nach 41- bzw. 57wöchiger Behandlung und 3 Wochen behandlungsfreiem Intervall ergeben sich ähnliche Befunde. Es sind in allen Schilddrüsen eindeutig infiltrierende Karzinome nachzuweisen. Bei drei Schilddrüsen handelt es sich um den hochdifferenzierten, follikulär strukturierten, thyreoglobulinreichen, gefäßinvasiven Karzinomtyp. Vier Schilddrüsen enthalten Zellkomplexe sowohl des thyreoglobulinreichen, angioinvasiven Typs als auch der breit invasiven, großzelligen Variante. In drei Schilddrüsen ist nur der großzellige Typ mit stellenweise papillären Strukturen innerhalb dieses Karzinoms zu finden. Die Hyperplasie des restlichen, nicht knotig umgewandelten Schilddrüsgewebes hat sich zurückgebildet.

Die autoradiographische Auswertung ergibt für diese Bereiche einen Markierungsindex von ca. 0,2 %, wobei aber herdförmig starke Unterschiede zu erkennen sind. Im Vergleich zu den nicht abgesetzten Tiergruppen der entsprechenden Versuchsstadien weisen die gut differenzierten, follikulären Knoten eine geringere Markierungsdichte auf. Der Markierungsindex der nicht invasiven, thyreoglobulinreichen, adenomatösen, von den malign entarteten Zellkomplexen oft nicht abgrenzbaren, follikulär aufgebauten Randbereiche liegt zwischen 0,83 und 2,54 % (Tab. 3). Die schon in vorhergehenden Versuchsgruppen gefundene Tatsache, daß die thyreoglobulinärmeren Bereiche allgemein stärker markiert sind als die thyreoglobulinreicheren, kann in den hier untersuchten Schilddrüsen bestätigt werden. Prinzipiell gilt, daß die Markierungsdichte der gefäßinvasiven, follikulären thyreoglobulinreichen Karzinomanteile bei den abgesetzten Tieren im Vergleich zu den Tieren mit weitergeführter thyreostatischer Behandlung deutlich gerin-

ger ist. Der durchschnittliche Markierungsindex dieser Areale liegt unter 3 %. Die Proliferationskinetik der großzelligen, breit infiltrierenden Karzinome scheint von den geänderten Versuchsbedingungen unbeeinflusst zu sein; deren Markierungsindex liegt immer höher als 3 %, in einem Fall sogar bei 25 %. Allerdings treten große Schwankungen auf (Tab. 3). Die Auswertung der doppelmarkierten Präparate ergab für die DNS-Synthese-Phase Zeiten von 6 - 14 Stunden.

Die Durchschnittsgewichte der Tiere mit 3 Wochen behandlungsfreiem Intervall liegen mit 157 - 182 g im oberen Bereich der, für die ohne Unterbrechung weiterbehandelten Tiere ermittelten Werte, so daß angenommen werden kann, daß bereits eine geringe Gewichtszunahme erfolgt ist (Tab. 4). Die durchschnittlichen Schilddrüsengewichte unterscheiden sich nicht von den entsprechenden Versuchsgruppen.

4.2.4.2. Befunde 17 Wochen nach Absetzen der Behandlung

Lichtmikroskopisch hat sich in allen drei Versuchsgruppen mit 17 Wochen behandlungsfreiem Intervall die Hyperplasie des nicht knotig umgewandelten Schilddrüsengewebes vollständig zurückgebildet (Abb. 15). Die Follikel, die jetzt wieder von flachen Epithelzellen gebildet werden, enthalten reichlich Kolloid. Die Untersuchung der Schilddrüsen mit 26wöchiger Behandlung und 17 Wochen behandlungsfreiem Intervall ergibt in vier Fällen je ein infiltrierendes Karzinom, wobei eines dem follikulären, angioinvasiven Typ entspricht. Eine Schilddrüse weist lediglich follikuläre, teilweise bindegewebig abgegrenzte, adenomatöse Knoten auf. In der Versuchsgruppe mit 48wöchiger Behandlung und 17wöchigem Intervall lassen sich in vier Fällen infiltrierende Karzinome nachweisen. Eines gehört dem follikulären, angioinvasiven Typ an. Zusätzlich kommt es in zwei Schilddrüsen zur gleichzeitigen Entwicklung mehrerer kleiner, großzelliger, teils papillär, teils zystisch papillär strukturierter Karzinomherde, die in getrennten Adenomen liegen. Die Anzahl dieser multifokalen Herde nimmt zu, so daß in der folgenden Versuchsgruppe mit 82wöchiger Behandlung bis zu fünf solcher Areale pro Schilddrüse zu finden sind. Drei Schilddrüsen in dieser Gruppe enthalten Karzinome vom breit infiltrierenden, großzelligen Typ.

Die autoradiographische Auswertung ergibt für das sich normalisierende, nicht knotig umgewandelte Gewebe einen Markierungsindex von durchschnittlich 0,05 - 0,085 % (Tab. 3). Diese Werte liegen somit deutlich unter den Markierungsindizes, die für das normale Schilddrüsengewebe einer erwachsenen Ratte ermittelt wurden. Die Markierungsdichte der hochdifferenzierten, follikulären Adenome nimmt weiter bis auf 0,16

- 0,38 % ab. Die Karzinome sind weiterhin stark markiert (2 - 25 %); wobei die höchsten Werte in den großzelligen, thyreoglobulinarmen Karzinomteilen vorkommen. Auffällig hoch sind die Markierungswerte in den multifokalen, kleinen, großzelligen, thyreoglobulinarmen Herden mit 10 %. Der Markierungsindex der angioinvasiven, thyreoglobulinreichen, follikulären Karzinome liegt bei ca. 2 % (Tab. 3).

Das durchschnittliche Schilddrüsengewicht liegt deutlich unter den Gewichten vergleichbarer Versuchsstadien ohne abgesetzte Behandlung. Die Tiergewichte steigen bis ca. 200 g deutlich an (Tab. 4).

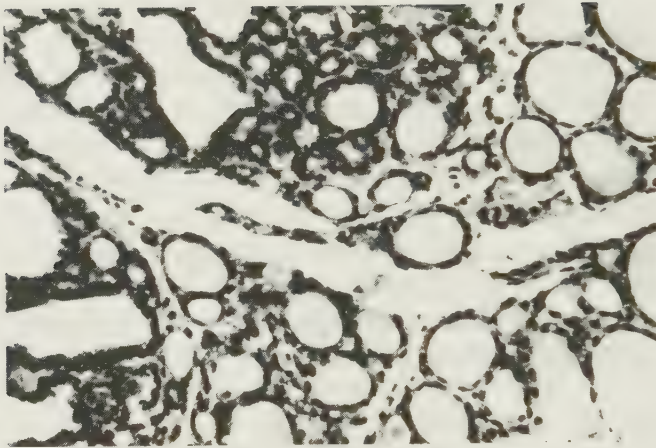


Abb. 15: Schilddrüse, Ratte, 26 Wochen thyreostatische
Behandlung nach Cancerisierung und 17 Wochen
behandlungsfreies Intervall.
Vollständige Rückbildung der einfachen Hyper-
plasie: flaches Epithel und kolloidreiche Fol-
likel.
Paraffinschnitt, HE, Vergr. 230fach.

4.2.5. Zusammenfassung der Befunde

4.2.5.1. Zusammenfassung der Befunde der Gruppe B

Lichtmikroskopisch zeigen die Schilddrüsen dieser Versuchsgruppe mit kombinierter Methylthiouracil- und Nitrosomethylharnstoff-Behandlung bereits ab Beginn der 2. Versuchswoche das histologische Bild einer gleichmäßigen diffusen Hyperplasie. Die von zylindrischen Epithelzellen gebildeten Follikel sind kleiner geworden und nahezu kolloidfrei. Ab der 12. Woche treten die ersten knotigen Verdickungen auf, entsprechend der knotigen Hyperplasie. Diese Areale sind nicht bindegewebig abgegrenzt, lassen sich aber durch ihre auffällig unregelmäßigen Follikel und die größere Zelldichte gut von der Umgebung unterscheiden. Mit zunehmender Behandlungsdauer erscheinen ab der 18. Woche fibrös abgekapselte Knoten, die sehr inhomogen aufgebaut sind, teils trabekulär, teils follikulär, manchmal mit pseudopapillären Proliferationen. In der 18. Woche kommt es auch zum ersten Auftreten infiltrierender Karzinome, die ab der 30. Woche in fast allen Schilddrüsen zu finden sind. Bei den eindeutig invasiven Karzinomen lassen sich nach histologischen und immunhistochemischen Kriterien prinzipiell zwei Arten unterscheiden: ein breit infiltrierend wachsender Karzinomtyp, der durch große blasse Zellkerne mit deutlicher Membran sowie eine auffällige Thyreoglobulinarmut charakterisiert ist, und eine sich angioinvasiv ausbreitende thyreoglobulinreiche, meist follikulär strukturierte Variante. In den ab der 44. Woche nachzuweisenden Lungenmetastasen ist ausschließlich der 2. Typ vertreten. In der Versuchsgruppe mit 36 - 44wöchiger Behandlungsdauer treten auch vermehrt follikuläre Knoten mit fibröser Abkapselung auf, in denen häufig zystisch oder regressiv veränderte Bezirke auffallen. Es kommt in diesen Adenomknoten auch mehrfach zur

Ausbildung atypischer, teils solid papillärer, teils zystisch papillär, auch follikulär strukturierter Herde. Gemeinsam ist ihnen eine hochgradige Thyreoglobulinarmut sowie große blasse Zellkerne mit betonter Membran. Diese Areale sind als Anfangsstadien des großzelligen Karzinomtyps anzusehen. Im Gegensatz dazu läßt sich das thyreoglobulinreiche, gefäßinvasive Karzinom nur durch den eindeutigen Nachweis einer Gefäßinfiltration von einem follikulären Adenom abgrenzen. Bei den bis jetzt besprochenen Karzinomen handelt es sich immer um maligne Entartungen der Follikel epithelzellen. Die C-Zellen bleiben durch die Behandlung unbeeinflußt. Im gesamten Versuchszeitraum tritt nur ein Fall eines C-Zell-Karzinoms auf, und zwar in der Gruppe mit 36 Wochen Behandlungsdauer. Bei den älteren Tieren kommt es vereinzelt zu Hyperplasie, teilweise auch knotiger Hyperplasie, der C-Zellen, was als Spontanveränderung angesehen werden muß (Thomas et al. 1975).

Die autoradiographische Auswertung des normalen unveränderten Schilddrüsenparenchyms weist über den gesamten Versuchszeitraum hinweg keine großen Änderungen auf. Zu Versuchsbeginn beträgt der Markierungsindex 0,28 % und entspricht damit dem Wert der unbehandelten Kontrolltiere. Nach 2 Wochen kombinierter Behandlung ist er auf 2 % angestiegen, um im Verlauf der nächsten 6 Wochen wieder auf den Normalwert abzusinken. Abgesehen von einer erneuten geringfügigen Steigerung im Versuchsstadium von 8 - 16 Wochen, bleibt der Wert bis zum Versuchsende auf 0,3 %. Die Auswertung der am stärksten markierten Areale der größten Knoten weist eine abnehmende Tendenz auf. In der Gruppe mit 8 - 16 Wochen dauernder Behandlung beträgt der Wert 8 % und sinkt dann kontinuierlich auf einen Durchschnittswert von 2,65 % bei den Tieren mit 82wöchiger Behandlung ab. Mit zunehmender Versuchsdauer steigen jedoch auch die individuellen Schwan-

kungen. Die kleineren Knoten sind generell geringer markiert. Die eindeutig invasiven Karzinome zeigen sehr hohe Unterschiede bezüglich ihrer Markierung. Prinzipiell ist der Markierungsindex der thyreoglobulinarmen, breit infiltrierenden, großzelligen Bezirke größer als der Markierungsindex des thyreoglobulinreichen, gefäßinvasiven, follikulären Karzinoms. Auffällig hohe Werte besitzen die Frühformen des großzelligen Karzinoms mit durchschnittlich 10 %. Für die Lungenmetastasen wurden Werte von 1 - 2 % ermittelt. Das C-Zell-Karzinom weist in seiner gesamten Ausdehnung eine ziemlich gleichmäßige Markierung auf.

Die Tiergewichte bleiben unter den gegebenen Versuchsbedingungen im gesamten Versuchszeitraum konstant zwischen 120 und 170 g. Die Schilddrüsengewichte nehmen kontinuierlich von ca. 0,02 g im Alter von 2 Wochen auf durchschnittlich 0,6 g in der Versuchsgruppe mit 51 - 82wöchiger Behandlung zu. Im Vergleich dazu steigen bei den unbehandelten Kontrolltieren der Gruppe A die Körpergewichte der Versuchstiere von ca. 150 - 160 g im Alter von 8 Wochen auf durchschnittlich 320 g bei den 57 Wochen alten Tieren an. Das Schilddrüsengewicht bleibt in dieser Versuchsreihe konstant (Tab. 2).

4.2.5.2. Zusammenfassung der Befunde der Gruppe C

Die Schilddrüsen dieser ausschließlich mit Methylthiouracil behandelten Tiere zeigen nach 26- bzw. 31wöchiger Versuchsdauer lediglich Anzeichen einer knotigen Hyperplasie ohne bindegewebige Abgrenzung. Erst in den Versuchsgruppen mit 42- und 67wöchiger Behandlung treten fibrös abgegrenzte Knoten und follikulär strukturierte Adenome auf. Insgesamt ist, wie zu erwarten war, die Tumorausbeute sehr viel geringer als in der Gruppe der zusätzlich cancerisierten Tie-

re. Pro Schilddrüse finden sich lediglich ein bis zwei Knoten. Karzinome lassen sich in keiner Schilddrüse nachweisen.

Autoradiographisch ergibt sich für den Markierungsindex des normalen unveränderten Schilddrüsenparenchyms ein Durchschnittswert von 0,24 %, der mit der Versuchsdauer eher abnimmt, ebenso ist es mit dem Markierungsindex der größten ausgewerteten Knoten. Die Adenome sind auffällig gering markiert (Tab. 1).

Das Gewicht der Tiere bleibt über die gesamte Versuchsdauer konstant. Die Schilddrüsen Gewichte nehmen von 0,076 g bei 26wöchiger Behandlung auf 0,11 g bei 67wöchiger Behandlung zu. Insgesamt ist somit eine sehr viel geringere Zunahme als bei vergleichbaren Tieren der Gruppe B zu verzeichnen (Tab. 4).

4.2.5.3. Zusammenfassung der Befunde der Gruppe D

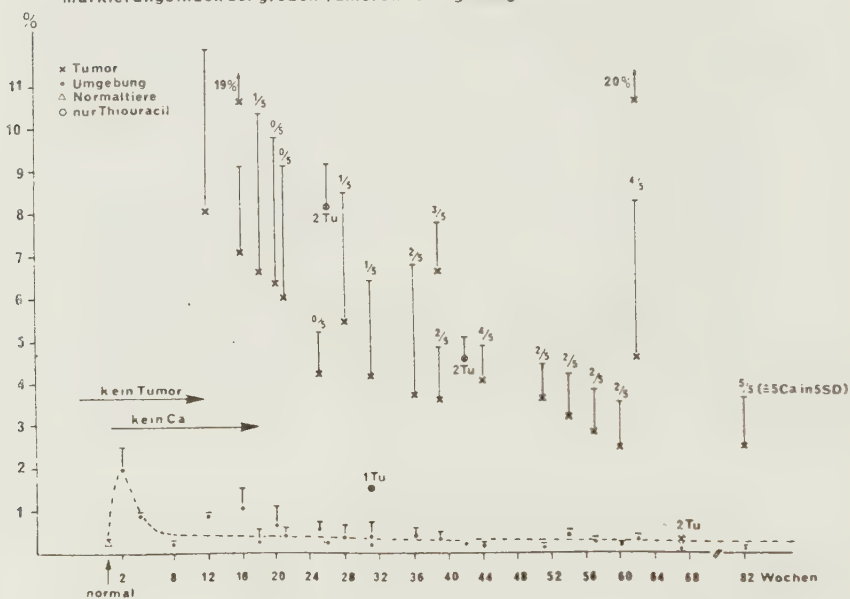
Lichtmikroskopisch kommt es nach Absetzen der Behandlung zu einer Rückbildung der Hyperplasie im noch nicht knotig umgewandelten Schilddrüsen Gewebe. Flache Epithelzellen und weite Follikel mit reichlich Kolloid bestimmen wieder das histologische Bild dieser Bezirke. Die knotig veränderten Areale scheinen dagegen relativ unbeeinflusst von den geänderten Versuchsbedingungen zu sein. Auffällig ist in der Gruppe mit 17 Wochen behandlungsfreiem Intervall das gehäufte Auftreten kleiner, thyreoglobulinarmer, großzelliger Karzinomherde mit stellenweise papillären Strukturen innerhalb bestehender Adenome.

Autoradiographisch sind diese Herde weiter hoch markiert, während der Markierungsindex des nicht knotig veränderten Schilddrüsen Gewebes in den ersten drei Wochen fehlender thyreostatischer Behandlung bis auf den Normalwert von 0,2 % sinkt und in 17 Wochen freiem Intervall auf 0,05 - 0,085 % abnimmt. In den malign entarteten Bezirken liegt der Markierungsindex

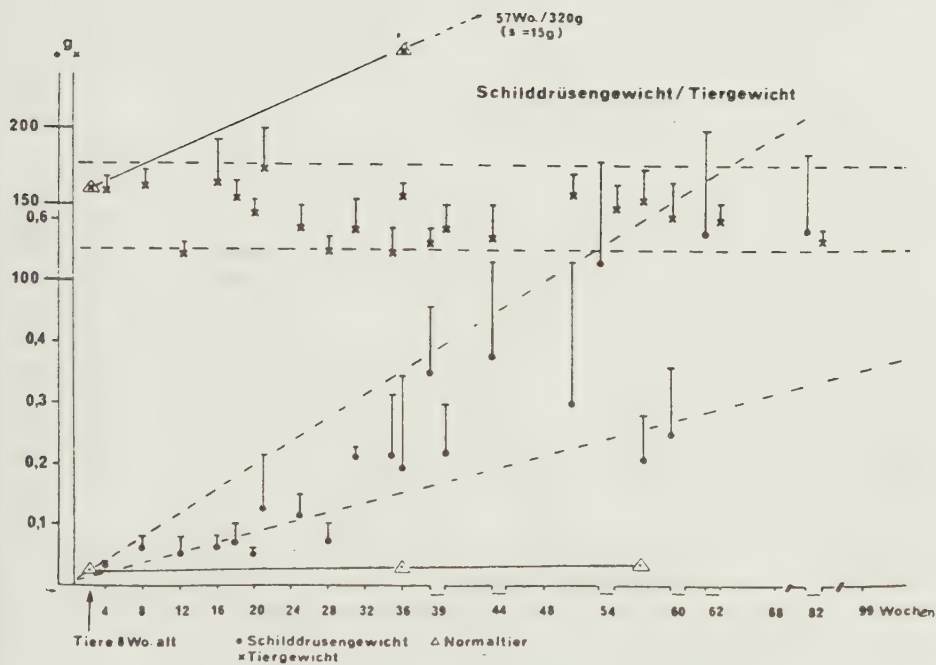
der thyreoglobulinarmen, großzelligen, breit infiltrierenden Zellkomplexe über den Werten, die für die thyreoglobulinreichen, angioinvasiven, follikulären Karzinome gelten. Generell ist die Markierung in diesen Tumoren unbeeinflusst hoch (Tab. 3).

Bezüglich der Gewichte der Tiere zeigt sich in der Versuchsgruppe mit 3 Wochen behandlungsfreiem Intervall ein geringer, in der 2. Gruppe mit 17wöchiger Unterbrechung ein deutlicher Anstieg auf 200 g. Die Schilddrüsengewichte unterscheiden sich in der ersten Gruppe nicht von den Werten vergleichbarer, nicht abgesetzter Tiere, in der zweiten Gruppe liegen sie deutlich darunter (Tab. 4).

Markierungsindex der großen Tumoren u. Umgebung

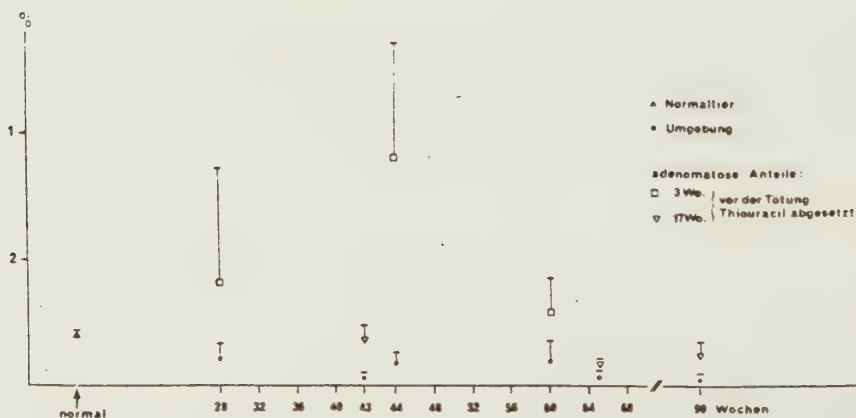


Tab. 1: Durchschnittliche Markierungsindizes (jeweils 5 Tiere) der größten Knotenbildungen in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer (x Gruppe B, o Gruppe C).

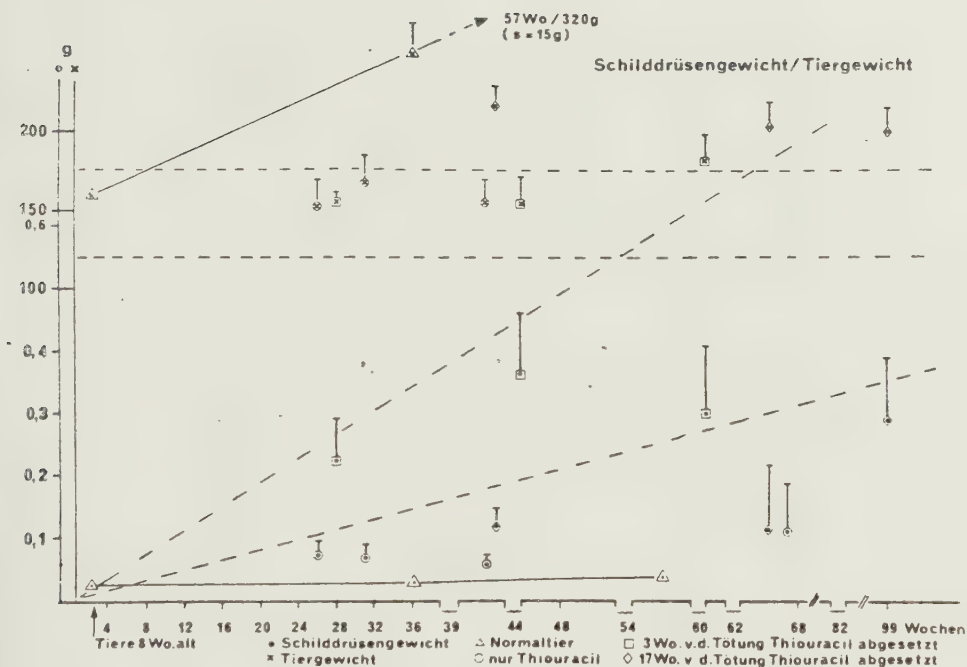


Tab. 2: Tiergewichte und Schilddrüsengewichte der Gruppen A und B in Abhängigkeit von der Behandlungsdauer

Markierungsindex



Tab. 3: Durchschnittliche Markierungsindizes (jeweils 5 Tiere) der größten Knotenbildungen nach 3 Wochen und nach 17 Wochen abgesetzter Behandlung (Gruppe D)



Tab. 4: Tiergewichte und Schilddrüsengewichte der Gruppen C (nur Methylthiouracil-Behandlung) und D (abgesetzte Tiere). Die gestrichelten Linien zeigen den Schwankungsbereich der Gewichte der zusätzlich cancerisierten Gruppe B an.

Tab. 5: Markierungsindizes der in den Schilddrüsen entwickelten Karzinome der Gruppe D.

Behandlungs- dauer (Wochen)	Markierungs- indizes (%)	Durchschnitts- werte (%)
25 + 3	1,6/ 6/ 9/ 9,4/ 15	8,7
41 + 3	8,9/ 9/ 20/ 25	15,7
57 + 3	4,7/ 5,1/ 6,5/ 9,9/ 10	9,2
26 + 17	2/ 3,5/ 5/ 10	5,1
48 + 17	2,1/ 4,1/ 15/ 25	10,5
82 + 17	2,1/ 6,3/ 8	5,5

	Behandlungs- zeit (Wochen)	MI der Umgebung (%)	MI der größten Knoten (%)	MI der kleinen Knoten (%)	Schild- drüsen- gewichte (g)	Tier- gewichte (g)
Gruppe B: Methyl- thiouracil und Nitrosomethyl- harnstoff	0	0,28	-	-	0,024	150-160
	2	2,0	-	-	0,024	150-160
	4	0,9	-	-	0,0375	150-160
	8	0,3	-	-	0,065	150-160
	8 - 16	0,8	8	5	0,065	150-160
	18 - 31	0,2	6,6 - 4,2	2 - 4,5	0,24	120-170
	36 - 44	0,2	4,5 - 3,6	-	0,37	120-160
	51 - 82	0,3	3,75 - 2,65	-	0,58	130-160
Gruppe C: Methyl- thiouracil	26	0,24	8,6		0,076	120-170
	31	0,24	1,5		0,070	120-170
	42	0,24	4,6		0,058	120-170
	67	0,13	0,33 + 0,25	(2 Adenome)	0,11	130-160

5. Diskussion

Obwohl die Schilddrüsenkarzinome nur weniger als 1 % aller beim Menschen auftretenden Malignome ausmachen, sind sie aufgrund ihrer morphologischen Vielfalt, ihrer unterschiedlichen biologischen Verhaltensweisen und ihrer endokrinen Abhängigkeitsmechanismen Gegenstand der experimentellen Tumorforschung geworden (Lietz 1974). Untersuchungen zu diesem Thema liegen bereits in großer Anzahl vor. Sie beschäftigen sich vorwiegend mit der Entwicklung experimenteller Versuchsmodelle zur Tumorinduktion (Übersicht bei Thomas et al. 1975), mit der Beschreibung der morphologischen Veränderungen im Schilddrüsen Gewebe unter den gegebenen Versuchsbedingungen (Gerteis 1952, Grundmann und Seidel 1965, Sheline 1969, Christov und Raichev 1972, Christov 1972, Thomas 1977, Schäffer und Müller 1977, 1980) sowie in neuerer Zeit mit den biochemischen, histochemischen und ultrastrukturellen Befunden der verschiedenen Tumorarten (Christov et al. 1976, Christov 1981, Permanetter 1982, 1984). Die in den letzten Jahren vermehrt durchgeführten autoradiographischen Untersuchungen zur Proliferationskinetik benigner und maligner Tumoren beziehen sich vorwiegend auf andere Organe (Steel 1977). Entsprechende Arbeiten hinsichtlich der Schilddrüsen-Cancerogenese liegen nur in geringer Anzahl vor. Sie beschreiben die Beziehung zwischen Alter und Proliferationsrate (Christov et al. 1973), die strahleninduzierten Veränderungen an der Schilddrüse (Christov und Raichev 1972, Christov 1982) sowie die funktionellen Charakteristiken im Rahmen der Schilddrüsen-Cancerogenese (Christov und Kristova 1971, Christov 1972). In der 1985 von Christov zu diesem Thema veröffentlichten Studie über die Proliferationskinetik und den DNA-Gehalt der Follikel-epithelzellen in den verschiedenen Stadien der Tumorgenese, vergleicht er

den Mitoseindex, den Markierungsindex, die S-Phasen-Dauer, die Verdopplungszeiten der Schilddrüsen-
gewichte und den DNA-Gehalt einer Gruppe unbehandel-
ter Kontrolltiere mit den Werten einer Gruppe thyr-
eostatisch behandelter Tiere, ohne aber ausführ-
lich auf die morphologischen Strukturen einzugehen.
Es fehlen auch genauere Angaben über die Kriterien,
die er seiner Diagnosestellung zugrundelegt, um zwi-
schen diffuser und knotiger Hyperplasie einerseits
und zwischen follikulären Adenomen und follikulären
bzw. papillären Karzinomen andererseits zu unter-
scheiden. Gerade dies bereitet bei endokrinen Orga-
nen oft Schwierigkeiten. Generell kann festgestellt
werden, daß es bei der Mehrzahl der zu diesem Thema
veröffentlichten Arbeiten eben an dieser grundlegen-
den, exakten Differenzierung mangelt.

Systematische vergleichende lichtmikroskopische und
autoradiographische Untersuchungen über die formale
Pathogenese von experimentell induzierten Schilddrü-
sentumoren, die die Veränderungen im Gewebe über den
gesamten Versuchszeitraum hinweg erfassen, fehlen bis-
lang in der Literatur. Anhand der vorliegenden Studie
sollten diese Daten ermittelt und eventuell neue Kri-
terien gefunden werden, die es ermöglichen, tumor-
verdächtige Strukturen im histologischen Präparat
schon in ihrer prä- bzw. frühmalignen Phase zu erken-
nen.

Wir bedienten uns des von Thomas und Bollmann (1974)
beschriebenen Modells, indem wir die Tiere einer kom-
binierten Behandlung mit Methylthiouracil und Nitro-
somethylharnstoff unterzogen. Als Vergleichsgruppen
dienten unbehandelte Kontrolltiere und Tiere, die
ausschließlich mit Methylthiouracil behandelt wur-
den. Zur Ergänzung bezogen wir in diese Versuchsreihe
eine Gruppe ein, anhand derer das Verhalten der in-
duzierten Tumoren nach Wegfall der Behandlung unter-

sucht werden sollte. Das von Thomas und Bollmann (1974, 1975) angegebene Versuchsmodell ermöglicht die größte selektive Ausbeute an Schilddrüsentumoren, die außerdem in relativ kurzer Zeit (100 % in 7 - 8 Monaten) entstehen (Thomas et al. 1975). Dies bestätigt sich auch in der vorliegenden Versuchsreihe: Ab der 30. Woche treten in fast allen kombiniert behandelten Schilddrüsen Karzinome auf. Eine ähnlich hohe Ausbeute geben Christov und Raichev (1972) bei einmaliger Bestrahlung mit 300 rad und gleichzeitiger langfristiger Methylthiouracil-Behandlung an. Nach 5 Monaten erhalten sie eine 96 %ige Tumorausbeute. In neueren Arbeiten liegen Untersuchungen über die Wirkung des Cancerogens Diisopropanolnitrosamin (DIPN) vor, mit dem innerhalb sehr kurzer Zeit (18 Wochen) eine hohe Tumorzinzidenz von 50 % zu erwarten ist (Mohr et al. 1977, Reznik 1977). Jedoch wirkt dieses Cancerogen nicht spezifisch organotrop auf die Schilddrüse, sondern erzeugt gleichzeitig in zahlreichen anderen Organ-systemen Tumore, die die Lebenszeit und damit die Versuchsdauer begrenzen.

Bei den in der Literatur vorliegenden Beschreibungen der morphologischen Veränderungen im thyreostatisch behandelten bzw. zusätzlich cancerisierten Schilddrüsengewebe fehlt meist eine ergänzende autoradiographische Untersuchung. Diese erlaubt mit Hilfe der ermittelten Markierungsindizes (Verhältnis der Anzahl der markierten Zellen zur Gesamtzahl der Zellen) eine Abschätzung der Proliferationsrate der zu untersuchenden Gewebe. Die Größe dieser Indizes hängt von der Generationszeit und der DNA-Verdopplungs-Zeit ab. Da aber erwiesen ist, daß letztere relativ konstant ist, und dies trifft auch in unserer Versuchsreihe zu, wie mit Hilfe der Doppelmarkierungsmethode ermittelt wurde (S-Phasen-Dauer = 6 - 14

Stunden in allen Versuchsgruppen), können sie zum Vergleich der Wachstumstendenz der unterschiedlichen Strukturen herangezogen werden (Schultze 1968).

In der Kontrollgruppe der unbehandelten Versuchstiere liegt der Markierungsindex entsprechend der geringen Proliferationsrate, die für das Erwachsenenstadium der Rattenschilddrüse erwiesen ist (Leblond und Walker 1956, Leblond et al. 1959), während der gesamten Versuchsdauer bei durchschnittlich 0,3 %. Dies entspricht auch den Ergebnissen früherer Untersuchungen von Sheline (1969) und Christov et al. (1973). In seiner neuesten Arbeit gibt Christov (1985) allerdings einen sehr viel geringeren Wert an. Er ermittelte für das Schilddrüsenparenchym der Kontrolltiere einen Markierungsindex von nur durchschnittlich 0,08 %. Histologisch entsteht als früheste faßbare Veränderung in den Versuchsgruppen B und C bei den Schilddrüsen mit der kürzesten Behandlungszeit von 14 Tagen eine gleichmäßig diffuse Hyperplasie mit allen Anzeichen einer erhöhten TSH-Stimulation: hohe Follikelrithelzellen, chromatinreiche Kerne, wenig Kolloid. Dies stimmt mit den Ergebnissen aus der Literatur überein (Gerteis 1952, Grundmann und Seidel 1965, Sheline 1969, Christov 1972, Christov und Raichev 1972, Thomas 1977, Schäffer und Müller 1977, 1980). Entsprechend der, durch den erhöhten TSH-Spiegel gesteigerten Proliferationsaktivität, ist der Anteil der markierten Zellen im hyperplastisch veränderten Schilddrüsenengewebe um ein 7faches höher als im Normalgewebe und beträgt bei den Tieren mit 2wöchiger Behandlung ca. 2 %. Anschließend sinkt der Markierungsindex wieder ab, um in der 8. Woche den Ausgangswert von 0,3 % zu erreichen. Dieser Wert wurde auch für die nicht knotig veränderten Schilddrüsenanteile der nur mit Methylvthiouracil behandelten Tiere nach 26- bzw. 42wöchiger Versuchsdauer ermittelt. Daraus könnte geschlossen werden,

daß sich mit zunehmender Behandlungszeit infolge der Hyperplasie wieder ein genügend hoher Hormonspiegel einstellen kann, der ausreicht, um die TSH-Ausschüttung aus der Adenohypophyse und damit die Proliferationsrate der Follikelepithelzellen zu reduzieren (Sheline 1969). Allerdings sprechen gleichzeitig durchgeführte Messungen der Schilddrüsenhormone gegen diese Hypothese, da während der gesamten Versuchsdauer kaum meßbare Thyroxinwerte im Blut festzustellen sind (Permanetter 1984). Es ist wohl eher "ein Unempfindlichwerden des Epithels auf den TSH-Stimulus" (Sheline 1969, Permanetter 1984). Wollman und Breitman (1970) vermuten eine Erschöpfung der TSH-produzierenden Enzymsysteme aufgrund der kontinuierlichen Produktionsanregung. Vergleichbare Versuche von Sheline (1969) ergaben nach einwöchiger thyreostatischer Behandlung sechs Wochen alter Ratten eine etwas stärkere Proliferationssteigerung um das 25fache auf 7 - 8 %. Nach vier Wochen liegt bei ihren Untersuchungen der Markierungsindex bei durchschnittlich 1,1 - 1,4 %, was den in der vorliegenden Versuchsreihe ermittelten Werten von 0,9 % bei vierwöchiger Versuchsdauer entspricht. Untersuchungen von Wollman et al. (1968) zeigen eine 50fache Steigerung nach dreitägiger Propylthiouracil-Behandlung. Christov et al. (1973) gibt bei den von ihm untersuchten acht Wochen alten Ratten nach 8tägiger Methylthiouracil-Behandlung eine 40fache Steigerung der Markierungsdichte an. Übereinstimmend wird in diesen Arbeiten ein Anstieg der Proliferationsrate durch thyreostatische Behandlung bis zum Erreichen des Maximalwertes am 8. Tag angegeben. Dann setzt nach einer kurzen Plateauphase ein Absinken des Markierungsindex ab der 2. Behandlungswoche ein. Diese Entwicklung kann anhand der vorliegenden Versuchsreihe nicht nachvollzogen werden, da die frühesten Befunde erst für eine 14tägige Behandlungsdauer vorliegen. In diesen Fällen beträgt

der Markierungsindex ein 7faches des Normalwertes. Die knotig hyperplastisch veränderten Bezirke mit deutlich verstärkter Kerndichte besitzen im Vergleich zum nur diffus hyperplastischen Gewebe eine deutlich stärkere Markierung. Warum und wie es zu dieser plötzlich wieder einsetzenden herdförmigen Reaktion auf die TSH-Stimulation kommt, läßt sich nicht beantworten. Sicher ist, daß diese "Empfindlichkeitssteigerung" zunächst noch hormonabhängig ist, da die Versuchsgruppen mit behandlungsfreiem Intervall vergleichbare Bezirke aufweisen, deren Proliferationsrate nach Normalisierung des Hormonhaushalts auffällig zurückgeht. Bei größeren inhomogenen Knoten ist die Rückbildungstendenz nach Entzug des wachstumsstimulierenden TSH deutlich geringer und erst nach 17wöchigem freien Intervall erkennbar. Diese Knoten stellen somit ein Grenzstadium in der sich entwickelnden Unabhängigkeit im Laufe der Adenomentstehung dar.

Hier wird die Problematik der histologischen Diagnostik deutlich. Einerseits soll eindeutig zwischen knotiger Hyperplasie und follikulärem Adenom sowie zwischen Adenom und Karzinom unterschieden werden, andererseits lassen sich oft keine klaren morphologischen Substrate für eine scharfe Abgrenzung nachweisen. Definitionsgemäß sind Adenome gutartige, autonome Tumore der Thyreozyten, die meist als "solitäre, kapselbegrenzte Knoten mit einem vom angrenzenden Schilddrüsenparenchym differenten Aufbau" auftreten (Lietz und Böcker 1981). Sie werden in der Schilddrüse nach histologischen Kriterien in mikro-, makrofollikuläre oder trabekuläre Formen unterteilt. Schon die Abgrenzung der knotigen Hyperplasie zum Adenom ist sehr problematisch und kann oft nur schwer beantwortet werden. Knotig hyperplastische Bezirke sind der Definition nach funktionell noch vom übergeordneten feed-back-Mechanismus abhängig, während Adenome autonom wachsende Geschwülste darstellen (Thomas et al. 1975, Hedin-

ger 1980). Schwierigkeiten bereiten v.a. die Grenzfälle. Auch in der vorliegenden Versuchsreihe lassen sich einerseits knotig hyperplastische Areale finden, die in den Absetzversuchen schon eine gewisse Hormonunabhängigkeit aufweisen, und andererseits treten größere inhomogene, fibrös abgegrenzte Knoten auf, die histologisch als Adenome definiert werden könnten, bei denen aber funktionell noch eine gewisse TSH-Abhängigkeit besteht, wie anhand der autoradiographischen Befunde festgestellt werden kann. In der Gruppe mit 67-wöchiger Methylthiouracil-Behandlung lassen sich zwei follikuläre Adenome nachweisen. Sie besitzen auffällig niedrige Markierungswerte von 0,25 bzw. 0,33 %. Auffälligerweise sinkt auch die Proliferationsrate der hyperplastischen Umgebung unter den Wert, der für das normale Schilddrüsenparenchym berechnet wurde und beträgt 0,13 %. Aus chromatographischen Untersuchungen von Christov und Kristova (1971) und Christov (1972) geht hervor, daß follikuläre Adenome bezüglich der Hormonsynthese höchste Aktivität besitzen. Eventuell synthetisieren sie unabhängig vom Regelmechanismus der Schilddrüse T_3 und T_4 und senken somit die TSH-Ausschüttung und die Proliferationsrate des noch abhängigen Parenchyms. Untersuchungen von Christov (1985) an thyreostatisch behandelten Ratten kamen zu etwas anderen Ergebnissen. Er ermittelte für die drei Monate lang behandelte, diffus hyperplastische Schilddrüse einen Wert von 1,4 %. Dies liegt etwas höher als in vergleichbaren Schilddrüsen unserer Versuchsserie. Die knotig hyperplastischen Areale weisen in seinen Versuchen dagegen keine erhöhte Proliferationsrate auf; ihr Markierungsindex beträgt 1,2 %. Bezüglich der Markierung der Adenome stimmt Christov mit unseren Ergebnissen darin überein, daß sie ebenfalls eine geringere Markierungsdichte als das diffus hyperplastische Gewebe der Umgebung aufweisen. Allerdings errechnete er für die in seiner Versuchsreihe entstandenen Karzino-

me (follikulär und papillär) insgesamt sehr viel niedrigere Werte als für die benignen Tumoren. Hier ergibt sich ein deutlicher Widerspruch zu unseren Ergebnissen, da erstens in unserer Versuchsreihe der nur thyreostatisch behandelten Tiere kein einziges Karzinom aufgetreten ist, und zweitens die Karzinome der Versuchsgruppe B deutlich höher als die Adenome markiert sind. Bei den solitär auftretenden Knoten bereitet die Frage nach ihrer Dignität oft Schwierigkeiten. Adenome und follikuläre Karzinome weisen häufig histologisch völlig identische Bilder auf. Entscheidend für ihre Klassifizierung ist die Beurteilung ihrer Fähigkeit zum invasiven Wachstum. Metastasierung, Gefäßinvasion und Kapseldurchbrüche sind eindeutige Malignitätskriterien (Thomas et al. 1975, Hedinger 1980). In der vorliegenden Versuchsreihe wurden nur histologische Strukturen, bei denen sich diese Kriterien eindeutig nachweisen ließen, zu den Karzinomen gezählt. Der follikulär strukturierte, thyreoglobulinreiche, gefäßinvasive Karzinomtyp läßt sich nur durch den eindeutigen Nachweis einer Gefäßinfiltration von einem follikulären Adenom abgrenzen. Im Gegensatz dazu kann die papilläre Karzinomvariante eindeutig aufgrund immunhistochemischer Parameter, die parallel mit den typischen großen, hellen Zellkernen einhergehen, abgegrenzt werden, so daß bei dieser Karzinomart die Gefäßinvasion zum Nachweis der Malignität nicht mehr nötig ist, sondern allein die zytologisch-histologischen Merkmale ausreichen (Permanetter 1984, 1985, Permanetter et al. 1982). Aufgrund eindeutiger Parallelen, die gleichzeitig durchgeführte immunhistochemische Untersuchungen ergaben, scheinen die atypischen, teils solid papillär, teils zystisch papillär strukturierten Herde, die in den Schilddrüsen mit 36-44wöchiger kombinierter Behandlung in schon bestehenden Adenomknoten auftreten und deren gemeinsame Merkmale eine auffällige Thyreoglobulinarmut sowie große,

blasse Zellkerne mit betonter Membran sind, Anfangsstadien des großzelligen Karzinomtyps zu sein.

In der Literatur liegen sehr unterschiedliche Angaben über nachgewiesene Lymphknoten- und Lungenmetastasen vor. Im vorliegenden Versuch treten in der Gruppe der zusätzlich cancerisierten Tiere nach 44-wöchiger Behandlung in drei Fällen Lungenmetastasen auf, nach 51 - 82wöchiger Behandlungsdauer lassen sich in neun Fällen Lungenmetastasen nachweisen. Die cervikalen Lymphknoten wurden histologisch nicht untersucht, so daß eventuell vorhandene Lymphknotenmetastasen nicht erfaßt werden konnten. Frantz et al. (1957) berichten über das Auftreten regionärer Lymphknotenmetastasen, ebenso Fortner et al. (1960), allerdings unter etwas anderen Versuchsbedingungen. Lindsay et al. (1968, 1969), von Schilling et al. (1967), Schäffer und Müller (1980) geben den Nachweis von Lungenmetastasen in ihren Versuchen an. Die von Purve und Griesbach (1946) beobachtete Rückbildungstendenz von Metastasen unter Hormonbehandlung läßt sich bei uns nicht bestätigen. Auch in der Versuchsgruppe der abgesetzten Tiere, bei denen bereits wieder eine Normalisierung des Hormonspiegels eingetreten ist, lassen sich Lungenmetastasen nachweisen, deren Markierungsdichte sich nicht von der Markierung der Metastasen in der Versuchsgruppe B unterscheidet. Über die Morphologie der Lungenmetastasen werden in den erwähnten Arbeiten keine Angaben gemacht. Nur in einem Fall wird von einer histologisch als anaplastisch diagnostizierten Lungenmetastase bei Grundmann und Seidel (1965) berichtet. Die in unserer Versuchsreihe entstandenen Metastasen gehören ausschließlich dem follikulär strukturierten, thyreoglobulinreichen, angioinvasiven Typ an.

Eine allgemein gültige Klassifizierung der experimentell erzeugten Schilddrüsentumoren bei der Ratte liegt bis jetzt nicht vor, und die von Hedinger und Sobin

(1974) eingeführte, vereinfachte WHO-Klassifikation der menschlichen Schilddrüsentumoren kann nicht ohne weiteres auf die experimentell erzeugten Tumoren übertragen werden (Hedinger 1980). Trotzdem wird in den veröffentlichten Arbeiten vorwiegend auf diese Einteilung in follikuläre, papilläre, anaplastische, medulläre und Plattenepithelkarzinome zurückgegriffen. Die experimentell induzierten Schilddrüsenkarzinome gehören vorwiegend dem follikulären Typ an (Thomas et al. 1975). Rein papillär strukturierte Karzinome treten nur selten auf und kommen auch in unserer Versuchsreihe nicht vor. Das in einem Fall diagnostizierte C-Zell-Karzinom läßt keine Abhängigkeit vom TSH-Stimulus erkennen und ist wohl eher als spontan entstandener Tumor einzuordnen. Dies deckt sich auch mit den Angaben aus der Literatur, die darin übereinstimmen, daß medulläre Schilddrüsenkarzinome vorwiegend als spontane Neubildungen bei älteren Ratten auftreten (Thomas et al. 1975).

Gleichartige autoradiographische Untersuchungen über die Proliferationskinetik eindeutig invasiver Karzinome der Rattenschilddrüse wurden bislang nicht durchgeführt. Die frühesten, sich eindeutig malign verhaltenden Tumore treten, noch als Ausnahme, in der Versuchsgruppe mit 18wöchiger Versuchsdauer auf. Ab der 30. Versuchswoche sind sie in fast allen Schilddrüsen nachzuweisen. Ihre Anzahl und Größe steigt mit zunehmender Versuchsdauer kontinuierlich an. Prinzipiell lassen sich in zwei Arten unterteilen: ein breit infiltrierender Karzinomtyp, der durch große, blasse Zellkerne mit deutlicher Membran sowie eine auffällige Thyreoglobulinarmut gekennzeichnet ist und eine sich angioinvasiv ausbreitende, thyreoglobulinreiche, meist follikulär aufgebaute Variante. Vergleicht man beide Karzinomarten bezüglich ihrer Markierungsindizes, so fällt auf, daß der breit infiltrierende, großzellige Typ eine stärkere Proliferationsaktivität besitzt. Er

weist prinzipiell eine höhere Markierungsdichte auf als die Areale der angioinvasiven, follikulären Variante. Auch Christov (1985) gibt an, daß die Areale stärkerer Markierung sich vorwiegend in den thyreoglobulinarmen Karzinomanteilen befinden. Untersuchungen über das Verhalten dieser malignen Tumore nach Absetzen der Behandlung zeigen, daß diese thyreoglobulinarmen, großzelligen Herde schon eine gewisse Unabhängigkeit vom TSH-Stimulus aufweisen. Ihre Proliferationsaktivität wird durch den erniedrigten TSH-Spiegel nicht gesenkt, stellenweise scheinen sie ihre Proliferationsrate noch zu steigern. Der Schritt zur Autonomie und weiter zur Malignität scheint also vom Verlust oder zumindest der Verminderung der Fähigkeit zur Thyreoglobulinsynthese begleitet zu sein. Christov (1972) untersuchte die Fähigkeit zur Hormonsynthese in den verschiedenen Stadien der Tumorentstehung. Seine Ergebnisse zeigen, daß die meisten Karzinome keine funktionelle Aktivität mehr besitzen. Jedoch bestehen Unterschiede bezüglich des Grades der funktionellen Entdifferenzierung in Abhängigkeit von der morphologischen Struktur. Die meisten papillären Karzinome besitzen, im Gegensatz zu den follikulär aufgebauten Tumoren, keine funktionelle Aktivität mehr. Auffallenderweise läßt sich aber diese stärker proliferierende, dysfunktionelle Karzinomart nicht in den Lungenmetastasen nachweisen. Diese gehören alle histologisch dem angioinvasiven, follikulär strukturierten Typ an. Dieser scheint aufgrund der Befunde, die anhand der abgesetzten Tiere ermittelt wurden, noch eine gewisse TSH-Abhängigkeit zu besitzen, denn nach Wegfall der TSH-Stimulation kommt es zur Abnahme der Proliferationsaktivität. Typisch ist für diese Karzinomart auch die noch erhaltene Stoffwechselkapazität, die sich in ihrem relativ großen Thyreoglobulingehalt äußert. Somit ist der Verlust der Fähigkeit zur Thyreoglobulinsynthese und die Entwicklung der Autonomie nicht unbedingt ein

Maßstab für die Dignität des Prozesses. Allerdings wurden in dieser Versuchsreihe keine regionären Lymphknoten untersucht, so daß nicht ausgeschlossen werden kann, daß der zweite Karzinomtyp lymphogene Metastasen gebildet hat.

Verfolgt man die Markierungsindizes der jeweils größten, noch nicht maligne entarteten Knoten, so fällt auf, daß diese mit zunehmender Versuchsdauer konstant abnehmen. Dies kann entweder wie beim hyperplastisch veränderten Gewebe der thyreostatisch behandelten Tiere auf ein "Unempfindlichwerden" der Follikelzellen gegenüber der TSH-Stimulation zurückzuführen sein oder auch Ausdruck einer zunehmenden Autonomie im Rahmen der Karzinogenese sein. Als weitere Ursache kommt das zunehmende Mißverhältnis zwischen Knotengröße und Gefäßversorgung in Betracht. Dafür sprechen auch die steigende Inhomogenität der Knoten und die immer häufiger auftretenden regressiven Veränderungen im Zentrum dieser Knoten.

Wie schon erwähnt, beruht dieses Versuchsmodell der Tumorinduktion auf der Tatsache, daß die anhaltende Suppression der Schilddrüsenhormonsynthese durch das Methylthiouracil eine gesteigerte TSH-Ausschüttung aus der Adenohypophyse bewirkt und so in direktem Zusammenhang mit der Entstehung der diffusen bzw. knotigen Hyperplasie steht. Eine unmittelbare cancerogene Wirkung des Methylthiouracils auf die Schilddrüsenzelle ist in der Literatur allerdings umstritten und läßt sich auch in dieser Versuchsreihe nicht bestätigen, da in der Versuchsgruppe der ausschließlich mit Methylthiouracil behandelten Tiere kein einziges Karzinom aufgetreten ist. Dies steht allerdings im Gegensatz zu Beobachtungen von Grundmann und Seidel (1965), bei denen nach 300 Tagen thyreostatischer Behandlung Karzinome entstanden sind. Auch Christov (1985) berichtet von follikulären und papillären Karzinomen in seiner

Versuchsserie. Napalkov (1967) und Casas (1963) sprechen dem Methylthiouracil eine direkte onkogene Wirkung zu, da sie in ihren Versuchen mit Methylthiouracil in verschiedenen Organen Tumore erzeugen konnten. Kracht (1952/53) verneint diese Möglichkeit. Andererseits zeigen Untersuchungen von Druckrey et al. (1961, 1967) und Thomas und Bollmann (1969), daß das Cancerogen allein ebenfalls keine spezifische Wirkung auf die Schilddrüse entwickeln kann. Dies wird erst durch die Stimulierung der Schilddrüse mit TSH ermöglicht, die eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der Schilddrüsentumore spielt. Nach der 2-Stufen-Theorie von Berenblum (1941, 1947, 1954) wird der erhöhten TSH-Stimulation die Rolle des sog. "Promotor-Faktors" zugeschrieben (Hall 1948, Kracht 1952/53, Dontenwill 1966). Das Cancerogen wirkt als sog. "initiiierender" Faktor direkt auf die Schilddrüsenzelle.

Verschiedene Untersuchungen von Rabes (1979, 1980, 1983) und Rabes et al. (1972, 1979) haben ebenfalls bestätigt, daß die Carcinogenexposition nach einer Proliferationssteigerung zu einer erhöhten Tumorzinzidenz führt. In umfangreichen Arbeiten über den Zeitpunkt der Einwirkung der cancerogenen Noxe wies er nach, daß die Zellen nur in bestimmten Zellzyklus-Phasen für das Cancerogen empfänglich sind, gegen Ende der G_1 -Phase und zu Beginn der S-Phase. Da die Schilddrüsenzellen ein sehr gering proliferierendes Gewebe sind, ist die TSH-Stimulierung notwendig, damit vermehrt ruhende Schilddrüsenzellen aus der G_1 -Phase in die S-Phase übertreten und so eine potenzierte Wirkung des Nitrosomethylharnstoffs ermöglichen. Allerdings wird dem Cancerogen zumindest in der Anfangsphase eine eigene proliferationssteigernde Wirkung zugesprochen (Rabes 1983). Für die Wirkung des Cancerogens spielen neben der Sensibilität des Erfolgsorgans und der chemischen Zusammensetzung auch die Dosierung und die Art der Applikation eine Rolle. Über die Bedeutung des Alters der Ratten

zu Versuchsbeginn herrschen widersprüchliche Meinungen in der Literatur. Doniach (1957) und Christov et al. (1973) konnten keine Unterschiede bezüglich der Tumorinduktion zwischen jungen und erwachsenen Ratten feststellen, im Gegensatz zu Sheline (1969). Unbedeutend sind für dieses Modell Geschlecht und Stamm der Ratten.

Laut Christov und Raichev (1972) vollzieht sich die Cancerogenese in der Schilddrüse in drei Stufen: Zuerst entsteht eine gleichmäßige diffuse Hyperplasie des gesamten Parenchyms, in der sich dann in der zweiten Phase noduläre Proliferationen abgrenzen, die je nach Versuchsbedingungen in benigne und maligne Tumoren übergehen können. Dies trifft auch in der vorliegenden Versuchsreihe zu. In der Gruppe der kombiniert behandelten Tiere kommt es ab der 2. Behandlungswoche zur Ausbildung einer diffusen Hyperplasie. Ab der 12. Woche treten erste knotige Verdickungen auf und ab der 18. Woche lassen sich Adenome und die ersten Karzinome nachweisen. Letztere sind ab der 30. Behandlungswoche regelmäßig zu finden. Die ersten Lungenmetastasen treten in der Versuchsgruppe mit 36 - 44wöchiger Behandlung auf. Diese Werte stimmen mit den für ähnliche Versuche angegebenen Ergebnissen in der Literatur überein. Keine Angaben liegen bislang über das Auftreten spezifischer prä- und frühmaligner Strukturen vor. In der vorliegenden Versuchsreihe können die, ab der 30. Versuchswoche vermehrt innerhalb schon bestehender Adenomknoten auftretenden, atypischen Herde mit teils solid papillärer, teils zystisch papillärer und auch follikulärer Struktur, aufgrund eindeutiger Parallelen, die gleichzeitig durchgeführte immunhistochemische Untersuchungen ergaben, als Frühformen des breit infiltrierenden, thyreoglobulinarmen Karzinomtyps angesehen werden. Wie schon erwähnt, ermöglichen es diese immunhistochemischen Parameter, die papilläre Karzinomart allein durch zytologisch-histologische Merk-

male zu diagnostizieren (Permanetter et al. 1982). Im Gegensatz dazu ist für die follikuläre, thyreoglobulinreiche, angioinvasive Variante der Nachweis einer Gefäßinfiltration zur Abgrenzung von einem follikulären Adenom unerlässlich.

Die Entwicklungstendenz, die sich bezüglich der Schilddrüsen- und Körpergewichte der Versuchstiere abzeichnet, stimmt mit den Angaben von Sheline (1969), Christov (1972, 1973) und Thomas et al. (1975) überein. Die Schilddrüsen Gewichte unbehandelter Tiere steigen aufgrund der entwicklungsbedingten Zellproliferation und Zunahme der Kolloidspeicherung (Sheline 1969, Thomas et al. 1975) bis zum Erreichen des Erwachsenengewichts an und verändern sich dann unter physiologischen Bedingungen nur mehr geringfügig. In der Gruppe der thyreostatisch behandelten Tiere ist dagegen ein starker Anstieg des Gewichts von 0,02 g (Normalgewicht einer acht Wochen alten Ratte) auf 0,11 g nach 67wöchiger Versuchsdauer zu verzeichnen, das bedeutet eine 5,5fache Steigerung. Sheline (1969) gibt nach einwöchiger Propylthiouracil-Behandlung eine Zunahme des Schilddrüsen Gewichts um 50 - 75 % an und nach 4 Wochen um 100 %. Die Faktoren, die unter diesen Bedingungen das Schilddrüsen Gewicht beeinflussen, sind vor allem die sich entwickelnde Hyperplasie und Hypertrophie der Follikel-epithel- und Stromazellen sowie die Unterschiede in der Kolloidspeicherung. Veränderungen in der Anzahl der Zellen können nicht direkt auf die Größe der Gewichtszunahme bezogen werden. Santler (1957) stellte diesbezüglich Untersuchungen an und fand heraus, daß eine Zunahme des Schilddrüsen Gewichts um 38 % einer Zunahme der Follikel-epithelzellen um 19 % entspricht. Dieser Frage wurde aber in der vorliegenden Studie nicht nachgegangen.

Das Schilddrüsen Gewicht der mit Methylothiouracil und Nitrosomethylharnstoff behandelten Tiere steigt vom Normalwert um das 29fache auf 0,58 g nach 82wöchiger

Behandlungsdauer an, was zu diesem Zeitpunkt vorwiegend auf das Wachstum der benignen und malignen Tumore zurückzuführen sein dürfte (Christov und Raichev 1972).

Der Vergleich mit den Versuchsgruppen, bei denen die Behandlung 3 bzw. 17 Wochen vor der Tötung abgebrochen wurde, zeigt, daß nach drei Wochen behandlungsfreiem Intervall noch keine Unterschiede bezüglich des Schilddrüsengewichts zu finden sind. Nach 17 Wochen sind deutlich geringere Werte als in den vergleichbaren, kombiniert behandelten Versuchsgruppen zu verzeichnen. In der Regel liegen die Gewichte in der abgesetzten Gruppe um mehr als die Hälfte unter denen der weiter behandelten Tiere.

Bezüglich der Körpergewichte der Tiere läßt sich feststellen, daß es bei den thyreostatisch und kombiniert behandelten Tieren im Gegensatz zu den unbehandelten Kontrolltieren während des gesamten Versuchszeitraums konstant bleibt. Nach Purves (1964) ist dies auf das Absinken der Konzentration des Wachstumshormons (STH) im Blut zurückzuführen. Dazu kommt es infolge der thyreostatischen Behandlung, da die Synthese des somatotropen Hormons die Anwesenheit der Schilddrüsenhormone benötigt (Purves 1964). Dies stimmt auch mit den Angaben von Sheline (1969) überein. Er führt an, daß die Abnahme des Körpergewichts bei den thyreostatisch behandelten Tieren wahrscheinlich das Ergebnis der Hypothyreose ist, da ein zu niedriger Schilddrüsenhormonspiegel allgemein die Wachstumsrate senkt. Als weitere Ursache der Wachstumsverzögerung wird auch ein gewisser toxischer Effekt des Methylthiouracils auf andere Organe wie das Blutbildungssystem oder die Leber diskutiert (Willis 1961). Ein Vergleich mit den Tieren der Gruppe D zeigt, daß es tatsächlich bei Normalisierung des Hormonspiegels wieder zu einem Anstieg des Gewichts kommt.

Auch wenn es problematisch ist, Parallelen zwischen den experimentell erzeugten Schilddrüsentumoren und den menschlichen Schilddrüsenveränderungen zu ziehen, die sich ja unter anderen Bedingungen entwickeln, so zeigen doch die experimentell induzierten Tumore der Ratte große Ähnlichkeit mit den Schilddrüsentumoren in der Humanpathologie.

Auch bei den Menschen überwiegen unter den epithelialen Schilddrüsenkarzinomen die papillären und follikulären Formen mit unterschiedlichen Metastasierungswegen. Die follikulären menschlichen Schilddrüsenkarzinome neigen wie die follikulär aufgebaute Karzinomart der Rattenschilddrüse zur hämatogenen Metastasierung. Beide sind allein durch den Nachweis einer Gefäßinvasion eindeutig vom follikulären Adenom abzugrenzen (Lang et al. 1977, Georgii 1977, Georgii und Lang 1979). Parallelen scheinen auch bezüglich der Abhängigkeit vom TSH-Spiegel zu bestehen. Das follikuläre Karzinom beim Menschen tritt vor allem in den diffus hyperplastischen Schilddrüsen der Struma-Endemiegebiete auf (Cuello et al. 1969, Löhrs 1976, 1983, Löhrs et al. 1977, 1980, 1983). Dies entspricht der Entwicklung dieser Karzinomart über die diffuse bis knotige Hyperplasie bis hin zum Adenom und Karzinom im vorliegenden Experiment. Beim Menschen wie bei der Ratte scheint die Entstehung dieser Karzinomart vom erhöhten TSH-Spiegel abhängig zu sein. Die typisch papilläre Karzinomvariante, die beim Menschen häufig in den Nichtendemiegebieten, also ohne TSH-Stimulus, auftritt, entsteht unter den gegebenen Versuchsbedingungen nur selten in der Rattenschilddrüse. Trotzdem lassen sich einige Parallelen zwischen dem menschlichen papillären Schilddrüsenkarzinom und dem entsprechenden Karzinomtyp bei der Ratte finden. Beide sind gekennzeichnet durch große, blasse Zellkerne mit deutlicher Kernmembran und fehlender hämatogener Metastasierung (Löhrs 1976, Meissner und Warren 1969, Nemec

et al. 1979, Mazzaferri 1981). Die Tatsache, daß das papilläre Karzinom besonders häufig in Bevölkerungsschichten mit erhöhter Strahlenbelastung auftritt, spricht für die Annahme, daß seine Entstehung nicht vom TSH-Stimulus abhängt (Schneider et al. 1980). Unterschiede zwischen den menschlichen Schilddrüsentumoren und den experimentell bei der Ratte erzeugten Neubildungen bestehen darin, daß die Tumoren beim Menschen meist solitär und in morphologisch gemischter Struktur auftreten, während sie in der Schilddrüse der Ratte häufig multipel und in reiner Form entstehen. Die menschlichen Schilddrüsenkarzinome sind oft von ausgedehnten Stromaveränderungen begleitet, die bei der Ratte zumindest nicht im gleichen Ausmaß zu finden sind (Christov und Raichev 1972).

Trotz der aufgeführten Differenzen zeigt sich jedoch anhand der hier durchgeführten experimentellen Untersuchungen, daß es auch bei der Ratte ganz eindeutig unterschiedlich endokrin aktive bzw. abhängige Tumor- bzw. Karzinomtypen gibt, die sich ganz ähnlich dem papillären bzw. follikulären Karzinom beim Menschen verhalten. Durch die zusätzlichen autoradiographischen und immunhistochemischen Untersuchungen lassen sich ganz unabhängig von rein histologischen Kriterien zytologische und immunhistochemische sowie proliferationskinetische Parallelen herausarbeiten, die auch bei der Ratte zwei Karzinomtypen definieren, die in ihrem biologischen Verhalten dem Typ des menschlichen papillären Karzinoms bzw. dem Typ des menschlichen follikulären Karzinoms vergleichbar sind.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, an experimentell erzeugten Schilddrüsentumoren der Ratte, die verschiedenen Stadien der Karzinogenese unter den gegebenen Versuchsbedingungen durch systematische lichtmikroskopische und autoradiographische Untersuchungen kontinuierlich über den gesamten Versuchszeitraum hinweg zu beobachten und dadurch zu neuen Erkenntnissen über prä- bzw. frühneoplastische Strukturen im histologischen Präparat sowie die Proliferationskinetik im Laufe der Tumorentstehung zu gelangen.

Zu diesem Zweck wurden 263 weibliche Wistarratten aus eigener Inzucht in vier Gruppen unterteilt und unterschiedlichen Behandlungen unterzogen. Eine Gruppe erhielt Methylthiouracil und Nitrosomethylharnstoff verabreicht. Als Vergleichsgruppen dienten unbehandelte Kontrolltiere und Tiere mit ausschließlicher Methylthiouracil-Behandlung. Eine weitere Gruppe wurde zur Ergänzung miteinbezogen. An dieser sollte das Verhalten der induzierten Tumore nach Wegfall der TSH-Stimulierung untersucht werden. Von allen Schilddrüsen wurden lichtmikroskopische und einfach- und doppeltmarkierte autoradiographische Präparate hergestellt.

Prinzipiell gehen der Entwicklung maligner Tumore Stadien der diffusen und knotigen Hyperplasie sowie die Entstehung von Adenomen voraus. Bei den kombiniert mit Methylthiouracil und Nitrosomethylharnstoff behandelten Tieren kommt es zur Beschleunigung der Tumorgenese sowie einer Zunahme der Tumorzinzidenz und -malignität im Vergleich zu den ausschließlich thyreostatisch behandelten Tieren. Bei diesen kommt es erst nach 42wöchiger Behandlungsdauer zum ersten Auftreten von Adenomen. Karzinome entwickeln sich nicht. In der Gruppe der zusätzlich cancerisierten Tiere treten ab der 12. Woche die ersten knotigen Veränderungen auf, die ab der 18. Woche als Adenome bezeichnet werden können.

In diesen Zeitraum fällt auch das erste Auftreten von Karzinomen, die ab der 30. Woche in allen Schilddrüsen zu finden sind. Die ersten Lungenmetastasen treten ab der 44. Woche auf. Prinzipiell lassen sich durch histologische und immunhistochemische Untersuchungsmethoden zwei Karzinomarten unterscheiden: eine breit infiltrierende, thyreoglobulinarme Variante mit großen, blassen Zellkernen, von der im vorliegenden Versuch keine Metastasen gefunden wurden, sowie eine follikulär strukturierte, thyreoglobulinreiche Art, deren angioinvasive Ausbreitung durch den Nachweis von Lungenmetastasen bestätigt wurde. Auffällig sind die, ab der 36. Woche auftretenden, atypischen Herde in bestehenden Adenomknoten, die als Frühstadien der ersten Karzinomart einzuordnen sind.

Die Markierungsdichte der hyperplastischen Schilddrüsenanteile beider Gruppen unterscheiden sich, soweit noch vorhanden, nicht. Sie beträgt, nach einer kurzen Anstiegphase bei Behandlungsbeginn, 0,2 - 0,3 %. In der knotig veränderten Bezirken steigt die Proliferation stark an, um beim Übergang zum Adenom wieder auffällig niedrigere Werte anzunehmen. Bei den beiden Karzinomarten läßt sich bezüglich ihrer Proliferationsaktivität feststellen, daß die erste Variante generell höher markiert ist. Die Frühstadien der follikulär strukturierten zweiten Art weisen eine relativ hohe Markierungsdichte auf. Prinzipiell gilt, daß alle malignen Strukturen sehr viel höher als die Umgebung markiert sind. Die größten, nicht malign entarteten Knoten zeigen über den gesamten Versuchszeitraum hinweg eine abnehmende Proliferationsrate. Für die DNS-Synthese-Dauer wurden relativ konstante Werte von 6 - 14 Stunden ermittelt.

Mit Hilfe der Gruppe der abgesetzten Tiere konnten die Veränderungen, die sich im Laufe der Tumorgenese entwickeln, auf ihre TSH-Abhängigkeit hin untersucht wer-

den. Dabei scheint der thyreoglobulinarme, breit infiltrierende, höher markierte Karzinomtyp eine weitgehende Autonomie zu besitzen, während die follikulär strukturierte Art noch eine erkennbare TSH-Abhängigkeit aufweist. Dies läßt sich durch den Vergleich der Proliferationsraten mit und ohne erhöhten TSH-Spiegel erkennen. Die erste Karzinomart zeigt bei den erniedrigten TSH-Werten der abgesetzten Gruppe eine unverändert hohe Markierung; die Proliferationsrate der zweiten Karzinomart nimmt hingegen aufgrund der einsetzenden Normalisierung des Hormonspiegels in dieser Gruppe ab. Die Bezirke gleichmäßig diffuser Hyperplasie weisen eine starke Rückbildungstendenz auf, die in den knotig veränderten Bezirken nicht mehr im gleichen Ausmaß erreicht wird. Demzufolge sinkt in den zurückgebildeten Schilddrüsenarealen der Markierungsindex wieder auf die Werte der normalen, erwachsenen Schilddrüse ab.

Trotz der bestehenden Problematik scheint es gerechtfertigt, den breit infiltrierenden, thyreoglobulinarmen Karzinomtyp der experimentell erzeugten Tumoren mit dem menschlichen papillären Karzinom zu vergleichen und die zweite, stärker TSH-abhängige, follikulär strukturierte, thyreoglobulinreiche Art dem follikulären menschlichen Karzinom gleichzusetzen. Die erhobenen Befunde könnten als Grundlage für weiterführende Untersuchungen bezüglich der präneoplastischen Veränderungen und des Entwicklungsmodus maligner Strukturen auch in der menschlichen Schilddrüse dienen, die stellvertretend als zahlenmäßig wichtigstes Beispiel für die Tumorentstehung in endokrinen Organen steht.

7. Literaturverzeichnis

- 1) Berenblum I.:
The co-carcinogenic action of crotonresin.
Cancer Res. (1941) 1:44-48
- 2) Berenblum I., Shubik P.:
The role of croton oil applications, associated
with a single painting of a carcinogen, in tumor
induction of the mouses skin.
Brit.J.Cancer (1947) 1:379
- 3) Berenblum I., Shubik P.:
The probable nature of promoting action and its
significance in the understanding of the mechanism
of carcinogenesis.
Cancer Res. (1954) 14:471
- 4) Brück K.:
XXX. Funktionen des endokrinen Systems.
Physiologie des Menschen, Hrsg.: R.F. Schmidt, G.
Thews, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York,
(1977) 651-681
- 5) Bürgi H.:
Neuere Aspekte der Pathophysiologie der Schilddrü-
se.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1977) 61:154-161
- 6) Casas C.B.:
Induction of hepatomas by thiouracil in inbred
strains of mice.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (1963) 113:493-494
- 7) Christov K.:
Autoradiographic characteristics of the experimen-
tal thvroid tumors.
Endokrinologie (1972) 59:382-390
- 8) Christov K.:
Ultrastructure of thvroid tumors.
I. Follicular adenomas and carcinomas in rats and
hamsters.
Path.Res.Pract. (1981) 173:30-44
- 9) Christov K.:
Effect of irradiation on the proliferation kinetics
of thyroid follicular cells in infant rats.
Exp.Path. (1982) 21:117-122
- 10) Christov K.:
Cell population kinetics and DNA content during
thyroid carcinogenesis.
Cell Tissue Kinet. (1985) 18:119-131

- 11) Christov K., Kristova M.:
Funktionelle Charakteristik der Schilddrüsenkarzinogenese bei Ratten. Chromatographische Untersuchung.
Arch.Geschwulstforsch. (1971) 37/3:257-265
- 12) Christov K., Raichev R.:
Experimental thyroid carcinogenesis.
Ergebnisse der Pathologie, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1972) 56:79-114
- 13) Christov K., Bollmann R., Thomas C.:
Thyroid follicular cell proliferation as a function of age.
Peitr.Path. (1973) 148:152-164
- 14) Christov K., Sugihara T., Lindenfelser R., Haubert P., Thomas C., Sandritter W.:
Transmission and scanning electron microscopy of experimentally induced thyroid tumors in rats.
Exp.Path. (1976) 12:315-325
- 15) Cuello C., Correa P., Eisenberg H.:
Geographic pathology of thyroid Cancer (carcinoma)
Cancer (1969) 23:230-239
- 16) Doniach I.:
Comparison of the carcinogenic effect of X-irradiation with radioactive iodine on rats thyroid.
Brit.J.Cancer (1957) 11:67-76
- 17) Doniach I.:
Experimental induction of tumours of the thvroid by irradiation.
Brit.med.Bull. (1958) 14:181-183
- 18) Döntenwill W.:
Erzeugung von Tumoren durch endogenhormonelle Faktoren.
In: Handbuch der experimentellen Pharmakologie. Bd. XVI. Erzeugung von Krankheitszuständen durch das Experiment. Teil 13, Tumoren II, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1966) 87-123
- 19) Druckrey H., Preussmann R., Schmähl D., Müller M.:
Chemische Konstitution und carcinogene Wirkung bei Nitrosaminen.
Naturwissenschaften (1961) 48:134
- 20) Druckrey H., Preussmann R., Ivankovic S., Schmähl E.:
Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten.
Z.Krebsforschung (1967) 69:103-201

- 21) Fortner J.G., George P.A., Sternberg S.:
Induced and spontaneous thyroid cancer in the
syrian golden hamster.
Endocrinology (1960) 66:364-376
- 22) Frantz V.K., Klingermann M.M., Harland W.A.,
Phillips M.E., Quimby E.M.:
A comparison of the carcinogenic effect of inter-
nal and external irradiation on the thyroid gland
of the male Long-Evans rat.
Endocrinology (1957) 61:574-581
- 23) Georgii A.:
Die epithelialen Tumoren der Schilddrüse.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1977) 61:191-208
- 24) Georgii A., Lang W.:
Frühe neoplastische Veränderungen in der Schild-
drüse.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1979) 63:203-218
- 25) Gerteis W.:
Über den Bau- und Wachstumsplan der menschlichen
Schilddrüse nach Thiouracil-Behandlung.
Beitr.Path.Anat. (1952) 112:421-444
- 26) Greene E.C.:
Anatomy of the rat.
Hafner Publishing Company, New York and London
(1963) 109-115
- 27) Grundmann E., Seidel H.J.:
Die Entstehung des Schilddrüsenkarzinoms bei der
Ratte unter Thiouracil und 2-Acetaminofluoren.
Beitr.Path.Anat. (1965) 321:188-219
- 28) Hall W.H.:
The role of initiating and promoting factors in
the pathogenesis of tumors of the thyroid.
Brit.J.Cancer (1948) 2:273-280
- 29) Heding Chr.:
Zur Pathologie der Schilddrüsenneoplasien.
Hrsg.: A.Schauer, F.K.Schattauer Verlag, Stuttgart
(1980) 7-38
- 30) Heding Chr., Sobin L.H.:
Histological typing of thyroid tumors.
International histological classification of
tumours, No. 11, Genf; WHO (1974)
- 31) Hilscher W., Maurer W.:
Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-
Verdopplung und ihres zeitlichen Verlaufs bei
Spermatogonien der Ratte durch Doppelmarkierung
mit ¹⁴C- und ³H-Thymidin.
Naturwissenschaften (1962) 49:352-354

- 32) Howard A., Pelc S.R.:
Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage.
Hereditary Suppl. (1953) 6:261-273
- 33) Kracht W.:
Die Schilddrüse und ihre Beziehungen zum Hypophysenvorderlappen und zur Nebennierenrinde.
Jahresbericht des Tuberkulose-Forschungsinstitutes Borstel (1952/53)
- 34) Lang W., Georgii A., Atay Z.:
Differentialdiagnose zwischen atypischem Adenom und follikulärem Carcinom der Schilddrüse.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1977) 61:275-279
- 35) Leblond C.P., Walker B.E.:
Renewal of cell populations.
Physiol.Rev. (1956) 36:255-275
- 36) Leblond C.P., Messier B., Kopriwa B.:
Thymidine-³H as a tool for the investigation of the renewal of cell populations.
Lab.Invest. (1959) 8:296-308
- 37) Lennartz K.I.:
Grundlagen, Technik und Anwendungsbereich der Autoradiographie.
MTA (1978) 4:153-163
- 38) Lietz H.:
Pathologische Anatomie der Schilddrüsentumoren.
In: Schilddrüse 1973, Hrsg.: H.Schleusener, B. Weinheimer, Thieme Verlag Stuttgart (1974)
- 39) Lietz H., Böcker W.:
Schilddrüse
Spez.Pathol.Anat. Band 14/1, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1981) 295-416
- 40) Lindsay S., Sheline G.E., Potterer G.D., Chaikoff J.:
Induction of neoplasms in the thyroid gland of the rat by X-irradiation of the gland.
Cancer Res. (1961) 21:9-16
- 41) Lindsay S., Nichols C.W., Chaikoff I.L.:
Naturally-occurring thyroid carcinoma in the rat.
Arch.Path. (1968) 86:353-364
- 42) Lindsay L.:
Ionizing radiation and experimental thyroid neoplasms: A review.
In: Thyroid cancer. Hrsg.: Chr.Hedinger, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1969) 161-171

- 43) Löffler G., Petrides P.E., Weiss L.:
Endokrine Gewebe (Hormone)
In: Physiologische Chemie, Hrsg.: Löffler G.,
Petrides P.E., Weiss L., Harper H.A., Springer
Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1979) 605-676
- 44) Löhrs U.:
Die pathologische Anatomie der Struma maligna.
Chirurg (1976) 47:413-421
- 45) Löhrs U.:
Epidemiologie und geographische Pathologie der
Schilddrüsenkarzinome.
Verh.Dtsch.Krebs-Ges. (1983) 4:583-592, Gustav
Fischer Verlag, Stuttgart-New York
- 46) Löhrs U., Permanetter W., Spelsberg F., Beitingger
M.:
Untersuchungen zu Vorkommen und Ausbreitung der
verschiedenen Schilddrüsenkarzinom-Formen in einem
Struma-Endemiegebiet.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1977) 61:268-274
- 47) Löhrs U., Permanetter W., Spelsberg F., Beitingger
M.:
Das Schilddrüsenkarzinom im bayerischen Struma-En-
demie-Gebiet.
Klin.Wschr. (1980) 58:415-424
- 48) Löhrs U., Spelsberg F., Schubert C., Petschek R.,
Permanetter W.:
Thyroid carcinoma in the Bavarian endemic goitre
area. Investigation of frequency of histological
types, tumor stages and prognosis.
Acta Endocrinol.Supp. 252 (1983) 103:26-27
- 49) Mazzaferri E.:
Papillary and follicular cancer: a selective
approach to diagnosis and treatment.
Ann.Rev.Med. (1981) 32:73-91
- 50) Meissner W.A., Warren S.:
Tumors of the thyroid gland.
Armed Forces Institute of Pathology, Washington (1969)
- 51) Mohr U., Reznik G., Pour R.:
Carcinogenic effects of diisopropanolnitrosamine in
sprague-dawley rats.
J.Natl.Cancer Inst. (1977) 58:361-366
- 52) Napalkov N.P.:
On blastogenic effect of antithyroid drugs.
In: Potential carcinogenesis hazards from drugs,
Hrsg.: R. Truhaut, Springer Verlag, Berlin-Heidel-
berg-New York (1967) 7:172-179

- 53) Nemec J., Zamrazil V., Pohinková D., Zeman V.,
Röhling S.:
Mode of spread of thyroid cancer.
Oncology (1979) 36:232-235
- 54) Permanetter W.:
Die Morphologie von Schilddrüsentumoren in ihrer
Beziehung zum biologischen Verhalten.
Habilitationsschrift, München (1984)
- 55) Permanetter W.:
Tumores tiroides experimentales: Investigaciones
immunohistoquímicas autoradiográficas.
Patologia (1985) 18:193-203
- 56) Permanetter W., Nathrath W., Löhrs U.:
Immunohistochemical analysis of thyreoglobulin and
keratin in benign and malignant thyroid tumours.
Virchows Arch.Path.Anat. (1982) 398:221-228
- 57) Pilgrim C.H., Maurer W.:
Autoradiographische Bestimmung der DNS-Verdopp-
lungszeit verschiedener Zellarten von Maus und
Ratte bei Doppelmarkierung mit 3H- und 14C-Thymi-
din.
Naturwissenschaften (1962) 49:544-545
- 58) Pilgrim C.H., Maurer W.:
Autoradiographische Untersuchung über die Konstanz
der DNS-Verdopplungsdauer bei Zellarten von Maus
und Ratte durch Doppelmarkierung mit 3H- und 14C-
Thymidin.
Exp.Cell.Res. (1965) 37:183-199
- 59) Purves H.D., Griesbach W.E.:
Studies on experimental goitre. VII.
Thyroid carcinomata in rats treated with thiourea.
Brit.J.Exp.Path. (1946) 27:294-297
- 60) Purves H.D.:
Control of thyroid function.
In: The thyroid gland, Hrsg.: R.Pitt-Rivers, W.
Trotter, Butterworths, London (1964) 2:1-39
- 61) Rabes H.M.:
3. Proliferative Vorgänge während der Frühstadien
der malignen Transformation.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1979) 63:18-39
- 62) Rabes H.M.:
Growth kinetics of human renal adenocarcinoma.
In: Renal Adenocarcinoma, Hrsg.: G. Surfrin, S.A.
Becklay, Genf (1980) 78-95

- 63) Rabes H.M.:
Development and growth of early preneoplastic lesions induced in the liver by chemical carcinomas.
J.Cancer Res.Clin.Oncol. (1983) 106:85-92
- 64) Rabes H.M., Scholze F., Jantsch E.:
Growth kinetics of Diethylnitrosamine-induced, enzyme-deficient "preneoplastic" liver cell populations in vivo and in vitro.
Cancer Res. (1972) 32:2577-2586
- 65) Rabes H.M., Carl P., Meister P., Rattenhuber U.:
Analysis of proliferative compartments in human tumors.
I. Renal adenocarcinoma.
Cancer (1979) 44:799-813
- 66) Reznik G.:
Diisopropanolnitrosamin-induzierte Schilddrüsentumoren bei Sprague-Dawley-Ratten.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1977) 61:299-302
- 67) Santler F.E.:
Growth in the cell populations of the thyroid gland of rats treated with thiouracil.
J.Endocrinol. (1957) 15:151-161
- 68) Schäffer R., Müller H.A.:
Vergleichende cytologische und histologische Untersuchungen an experimentell erzeugten Schilddrüsentumoren der Ratte.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1977) 61:302-304
- 69) Schäffer R., Müller H.A.:
On the development of metastasizing tumors of the thyroid gland after combined administration of nitrosomethylurea and methylthiouracil.
J.Cancer Res. Clin.Oncol. (1980) 96:281-285
- 70) Schilling v. B., Froberg H., Oettel H.:
Spontane Schilddrüsentumoren in der Versuchsratte.
Z.Krebsforschung (1967) 70:161-164
- 71) Schneider A., Pinsky S., Bekerman C., Ryo U.:
Characteristic of 108 thyroid cancers detected by screening in a population with a history of head and neck irradiation.
Cancer (1980) 46:1218-1227
- 72) Schultze B.:
Autoradiographische Untersuchung der INS-Synthese der Zelle.
In: Handbuch der allgemeinen Pathologie, Hrsg.: Altmann H.W., Büchner F., Cottier H., Holle G.,

Letterer E., Masshoff W., Meesen H., Roulet F.,
Seifert G., Siebert G., Studer A., Springer Ver-
lag, Berlin-Heidelberg-New York (1968) 562-636

- 73) Sheline G.L.:
Thyroid proliferative potential as a function of
age.
Cell Tissue Kinet. (1969) 2:123-132
- 74) Steel G.G.:
Growth kinetics of tumours.
Cell population kinetics in relation to the growth
and treatment of cancer.
Clarendon Press Oxford (1977)
- 75) Studer H.:
Schilddrüse.
In: Klinische Pathophysiologie. Hrsg.: Siegenthaler
W., Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1970) 280-295
- 76) Thomas C.:
Experimentelle Schilddrüsentumoren.
Verh.Dtsch.Ges.Path. (1977) 61:225-235
- 77) Thomas C., Bollmann R.:
Untersuchungen zur Organotropie der krebserzeugen-
den Wirkung des N-Nitroso-N-Methyl-Harnstoffs (NMH)
an Ratten.
Experientia (Basel) (1969) 25:50-51
- 78) Thomas C., Bollmann R.:
Zur kausalen Pathogenese und Morphologie der Schild-
drüsentumoren der Ratte.
Z.Krebsforschung (1974) 81:243-249
- 79) Thomas C., Bollmann R., Christov K.:
Pathogenese und Morphologie der Schilddrüsentumo-
ren.
In: Handbuch der allgemein. Pathologie, Hrsg.: E.
Grundmann, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New
York (1975) VI/7:769-837
- 80) Walthard B.:
Die Schilddrüse.
In: Spezielle pathologische Anatomie, Springer Ver-
lag, Berlin-Heidelberg-New York (1969) 4:321-430
- 81) Willis J.:
The induction of malignant neoplasms in the thyroid
gland of rat.
J.Path.Bact. (1961) 82:23-27
- 82) Wegelin C.:
Die Schilddrüse
In: Handbuch der speziellen patholog. Anatomie und

Histologie. Hrsg.: F.Henke, O.Lubarsch, Springer
Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1926) 8:1-485

- 83) Wimber D.E., Quastler H.:
A ^{14}C - and ^3H -Thymidine double labelling technique
in the study of cell proliferation in tradescantia
root tips.
Exp.Cell Res. (1963) 30:8-22
- 84) Wollman S.H.:
Effects of feeding thiouracil on thyroid glands
of rats.
J.nat.Cancer Inst. (1961) 26:473-487
- 85) Wollman S.H., Andros G., Cannon G.B., Eagleton B.G.:
Production and involution of the hyperplastic
thyroid gland.
In: Thyroid Neoplasia. Hrsg.: S.Young, D.R.Inman,
Academic Press, London-New York (1968) 201-209
- 86) Wollman S.H., Breitman T.R.:
Changes in DNA and weight of thyroid glands during
hyperplasia and involution.
Endocrinology (1970) 86:322-327

Anhang

An dieser Stelle möchte ich Herrn Priv.Doiz. Dr. med. Willibald Permanetter herzlich für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung meiner Arbeit danken.

Lebenslauf

Am 20.2.1958 wurde ich als Tochter von Georg Schneider und seiner Ehefrau Hildegard, geb. Heiny, in Burghausen, Kreis Altötting, geboren.

Im Herbst 1964 trat ich in die Johannes-Heß-Volksschule in Burghausen ein. Von September 1970 bis Juli 1974 besuchte ich die Realschule der Engl. Fräulein in Burghausen, die ich mit der Mittleren Reife abschloß. Dann wechselte ich auf die Übergangsklasse des Staatlichen Gymnasiums Pfarrkirchen über. Nach einem Jahr trat ich in den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig des Aventinus-Gymnasiums Burghausen ein, wo ich im Juni 1978 das Abitur ablegte.

Mein Studium der Zahnheilkunde begann ich im Sommersemester 1979 an der Ludwig Maximilians-Universität in München. Hier bestand ich 1980 das Vorphysikum und 1982 das Physikum. Im Oktober 1982 begann ich mit der Arbeit an meiner Dissertation. Am 14.8.1985 beendete ich mein Studium mit dem Bestehen des Staatsexamens und erhielt am 22.8.1985 die Approbation.

